



Etude écophysiological de l'endurcissement au gel des arbres

Magali Poirier

► To cite this version:

Magali Poirier. Etude écophysiological de l'endurcissement au gel des arbres. Biologie végétale. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I, 2008. Français. NNT : 2008CLF21857 . tel-00730618

HAL Id: tel-00730618

<https://theses.hal.science/tel-00730618>

Submitted on 10 Sep 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
N° D.U.: 1857

UNIVERSITE D'Auvergne
ANNEE 2008

ECOLE DOCTORALE
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
N° d'ordre : 484

Thèse

Présentée à l'Institut National de la Recherche Agronomique
Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

(Spécialité : Physiologie et Génétique Moléculaires - Physiologie végétale)

Soutenue le 26 septembre 2008

Magalie POIRIER

Etude écophysiological de l'endurcissement au gel des arbres : Impact des conditions estivales de croissance sur la résistance au gel des arbres

Membres :

- ✓ Jean-Louis JULIEN, Professeur à l'Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
- ✓ André LACOINTE, Chargé de recherche à l'INRA, Clermont-Ferrand
- ✓ Jean-Luc FLOT, Chef du Département de la Santé des Forêts du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Paris

Rapporteurs :

- ✓ Nathalie BREDAS, Directrice de recherche à l'INRA, Nancy
- ✓ Jean-Claude MAUGET, Professeur à l'Agrocampus Ouest (Agrocampus Rennes/INH), Angers
- ✓ Eric DUFRENE, Chargé de recherche au CNRS, Orsay

Directeur de thèse :

- ✓ Thierry AMEGLIO, Directeur de recherche à l'INRA, Clermont-Ferrand



A mes parents,

Remerciements

« L'habilité à formuler les remerciements caractérise le spécialiste de haut vol. »

Umberto Eco

Comme Umberto Eco l'avait prédit, rédiger ces remerciements n'est pas forcément facile. Excusez donc ma maladresse, et pardon à celles et ceux que je vais oublier. Je tiens à remercier ici, l'ensemble des personnes qui de près ou de loin m'ont permis de réaliser ce travail. Un travail de doctorat n'est pas, contrairement à une opinion parfois professée, un travail de recherche solitaire, effectué dans une tour d'ivoire. Au contraire, la qualité du travail est fortement dépendante de la collaboration de nombreuses personnes.

J'adresse mes remerciements au Département Santé des Forêts du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et de la Ruralité et à l'Institut National de la Recherche Agronomique pour m'avoir octroyé pendant 3 ans une bourse me permettant de réaliser ma thèse au sein de l'Unité Mixte de Recherche de Physique et Physiologie Intégrée de l'Arbre Fruitier et Forestier de l'I.N.R.A de Clermont-Ferrand/Theix.

Merci à tous les membres de l'équipe DORAM du PIAF pour leur accueil durant près de 3 ans et demi parmi eux.

Je souhaiterais en particulier exprimer mes remerciements à Monsieur Hervé Sinoquet, ancien directeur de l'U.M.R. P.I.A.F., pour m'avoir accueillie dès ma première année de thèse au laboratoire. Je remercie également Monsieur Jean-Louis Julien, l'actuel directeur de l'unité. Soyez assurés de ma reconnaissance et de ma sympathie.

Je remercie tout spécialement, Monsieur Thierry Améglio, actuel directeur-adjoint de l'U.M.R. P.I.A.F. et directeur de cette thèse. Je lui exprime ma plus profonde gratitude pour son sens aigu de la communication scientifique, son savoir-faire, son aide tant scientifique que pratique et pour sa disponibilité. Je sais que tout le monde n'a pas la chance d'avoir eu un encadrement aussi didactique, alors que dire de plus sinon que je souhaite que notre collaboration perdure encore longtemps. En tout cas, sois sûre je n'oublierai pas ce que je te dois. Merci de m'avoir fait confiance...

Je souhaite remercier l'ensemble des membres du comité de pilotage de ma thèse pour leur conseils avisés et pertinents sur mon travail : François Beaujard, Nathalie Bréda, Hervé Cochard, Jean-Luc Flot, Jean-Louis Julien et André Lacointe. Merci aussi aux personnes qui ont relu cette thèse : Jean-Louis Julien et Agnès Guilliot. Et un grand Merci à Nathalie Bréda pour son accueil chaleureux à l'I.N.R.A. de Nancy et pour m'avoir initiée à la Cryo-SEM.

Je remercie également les membres du jury pour avoir accepté de juger mon travail de thèse : Nathalie Bréda, Eric Dufrêne, Jean-Luc Flot, Jean-Louis Julien, André Lacointe, et Jean-Claude Mauget.

Un grand merci à Christian Bodet, à Stéphane Ploquin, à André Marquier et à Christophe Serre pour leur aide dans les manips de résistance au gel et la découpe des arbres, à Brigitte Girard, à Brigitte Saint-Jouanis et à Marc Vandame pour leur aide dans les manips de dosages glucidiques, à Patrice Chaleil et à Arlette Cisoire pour leur aide dans l'entretien des arbres, à Nicole Brunel pour son aide en microscopie optique et enfin, merci à André Lacointe pour son aide en modélisation. Ce fut un énorme plaisir de travailler avec vous. Je remercie également Norbert Frizot pour les dépannages occasionnels de mon PC qui parfois faisait des siennes.

Merci à tous ceux qui partagèrent mon bureau et rompirent ainsi une solitude parfois pesante : David, Thibault, Gaëlle et Guillaume.

Je tient également à remercier celles dont on ne cesse de souligner la compétence, mais qui simplifient tellement les tâches administratives : Dominique Tiziani et Sylvie Vayssié. Merci à vous deux.

Merci à Eric qui a tellement enduré. Merci d'avoir épongé mes doutes, respecté mes silences et pour tes perpétuels encouragements, malgré des situations pas toujours faciles. Je suis heureuse d'avoir partagé tout cela avec toi. Et j'espère en partager encore...

Et enfin, merci à mes parents et à toute ma famille pour leur soutien inestimable et leur encouragement sans faille.

SOMMAIRE

AVANT PROPOS	13
---------------------------	-----------

INTRODUCTION GENERALE	15
------------------------------------	-----------

<i>Contexte</i>	<i>17</i>
<i>Objectif et déroulement du travail de thèse</i>	<i>18</i>

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	21
---------------------------------------	-----------

<i>Introduction.....</i>	<i>23</i>
<i>1 Les réserves glucidiques chez les ligneux en zone tempérée.....</i>	<i>23</i>
<i>1.1 Nature biochimique des réserves</i>	<i>24</i>
1.1.1 Amidon et sucres solubles	24
1.1.2 Autres composés de réserve	25
<i>1.2 Localisation des réserves dans l'arbre.....</i>	<i>26</i>
1.2.1 Les tissus de réserve	26
1.2.2 Les organes de réserve.....	31
1.2.3 Effet de quelques facteurs environnementaux sur la mise en réserve	33
<i>1.3 Variations saisonnières des réserves glucidiques.....</i>	<i>35</i>
1.3.1 Dynamique saisonnière	35
1.3.2 Utilisation des réserves.....	39
1.3.3 Reconstitution des réserves amylacées.....	44
1.3.4 Phénomènes d'échanges latéraux : influx et efflux de sucres	46
<i>2 La résistance au gel des arbres</i>	<i>49</i>
<i>2.1 Quelques notions sur la température d'un organe et les risques de gel.....</i>	<i>49</i>
2.1.1 Notion de température d'organe	49
2.1.2 Risques des températures gélives	51
<i>2.2 Les effets du gel sur les arbres</i>	<i>52</i>
2.2.1 Les dégâts du gel visibles sur les organes	52
2.2.2 L'embolie hivernale	53
2.2.3 Les dégâts cellulaires.....	56
<i>2.3 Les différents mécanismes de résistance au gel des arbres.....</i>	<i>57</i>
2.3.1 Absence de cristallisation.....	57
2.3.2 Tolérance à la formation de la glace.....	59
<i>2.4 L'acclimatation au gel.....</i>	<i>61</i>
2.4.1 Processus saisonnier	61
2.4.2 Modifications biochimiques	63
2.4.3 Modifications cytologiques	66
2.4.4 Le déterminisme génétique de la tolérance au gel.....	68
<i>2.5 La modélisation de la résistance au gel.....</i>	<i>72</i>
2.5.1 Présentation des modèles.....	72
2.5.2 Avantages et inconvénients des modèles précédemment décrits.....	76

MATERIELS ET METHODES.....	79
<i>1 Matériel végétal</i>	<i>81</i>
<i>1.1 Le Noyer.....</i>	<i>81</i>
<i>1.2 Conduites culturales.....</i>	<i>87</i>
1.2.1 Arbres en conteneur.....	87
1.2.2 Arbres en plein champ.....	94
<i>2 Méthodes de mesure des paramètres physiologiques des arbres</i>	<i>95</i>
<i>2.1 Etat hydrique</i>	<i>95</i>
2.1.1 Mesure du potentiel hydrique foliaire par la chambre de pression.....	95
2.1.2 Mesure de la transpiration relative par pesée journalière	96
<i>2.2 Mesures de croissance.....</i>	<i>97</i>
2.2.1 Mesure de la croissance des pousses néoformées	97
2.2.2 Mesure de la croissance du tronc.....	98
2.2.3 Suivi de la surface foliaire des arbres.....	99
2.2.4 Suivi de la surface foliaire des arbres en plein champ (année 2005).....	101
<i>2.3 Echantillonnage hivernale des noyers en conteneur.....</i>	<i>101</i>
<i>2.4 Mise en évidence de la structure cellulaire et de l'amidon.....</i>	<i>102</i>
2.4.1 Echantillonnage.....	102
2.4.2 Inclusion en résine LR White, coloration et observation	103
<i>2.5 Dosage des glucides.....</i>	<i>104</i>
2.5.1 Echantillonnage.....	104
2.5.2 Dosage des sucres solubles par HPLC	107
2.5.3 Dosage enzymatique de l'amidon	108
<i>2.6 Evaluation de la biomasse structurale des organes.....</i>	<i>109</i>
<i>2.7 Evaluation de la résistance au gel des arbres.....</i>	<i>110</i>
2.7.1 Echantillonnage.....	110
2.7.2 Traitement gel-dégel.....	111
2.7.3 Test de fuite des électrolytes : LT ₅₀	112
2.7.4 Le test Gélista™	114
<i>2.8 Formation de la glace dans le tissu végétal.....</i>	<i>116</i>
2.8.1 Echantillonnage.....	116
2.8.2 Microcalorimétrie différentielle	116
<i>3 Analyses statistiques.....</i>	<i>117</i>
<i>3.1 Comparaison des moyennes.....</i>	<i>117</i>
<i>3.2 Régressions linéaires.....</i>	<i>117</i>
<i>3.3 Analyse de la covariance (ANCOVA).....</i>	<i>117</i>
<i>3.4 Analyse statistique des modèles.....</i>	<i>117</i>
RESULTATS – DISCUSSIONS	119
<i>Chapitre I : Comparaison de méthodes d'évaluation de la résistance au gel et adaptation du test de fuite des électrolytes au Noyer commun (Juglans regia L.).....</i>	<i>121</i>
<i>Introduction.....</i>	<i>123</i>
<i>Résultats.....</i>	<i>125</i>
1.1 Estimation de l'endurcissement au gel par le test de fuite des électrolytes.....	125
1.2 Changement saisonnier de la résistance au gel.....	128
1.3 Estimation de l'endurcissement au gel par la méthode Gélista™	129
1.4 Visualisation des dommages cellulaires au microscope optique.....	133
1.5 Test de gel sur plantes entières	133
<i>Discussions</i>	<i>135</i>
<i>Chapitre II : Les critères physiologiques et environnementaux de la résistance au gel.....</i>	<i>141</i>
<i>Introduction.....</i>	<i>143</i>
<i>Résultats.....</i>	<i>144</i>

2.1 Impact du climat sur l'endurcissement au gel, la variation de l'humidité pondérale et la dynamique d'accumulation des glucides.....	144
2.2 Mise en évidence des corrélations entre LT ₅₀ et les variables mesurées	153
2.3 Tentative de modélisation de la résistance au gel.....	156
Discussions	159
Chapitre III : Impact des conditions estivales de croissance sur la résistance au gel de jeunes noyers en conteneur	167
III - A : Impact des conditions estivales de croissance sur le développement végétatif et sur la répartition des réserves carbonées dans les différents organes de l'arbre	171
Introduction.....	171
Résultats.....	172
3.A.1 Développement aérien des arbres sous différentes contraintes culturales	172
3.A.2 Structure cellulaire des rameaux de l'année, des racines fines et du pivot de l'arbre soumis à différents conditionnements estivaux	195
3.A.3 Répartition de la biomasse et des glucides totaux chez un noyer témoin.....	195
3.A.4 Variation de la biomasse et de la quantité de glucides à l'échelle de l'arbre soumis à différents conditionnements estivaux	197
3.A.5 Variation de la répartition de la biomasse structurale dans les différents organes soumis à divers traitements estivaux	199
3.A.6 Variation des teneurs en glucides dans les organes des arbres soumis à différents conditionnements estivaux	201
3.A.7 Interconversion Amidon / Sucres Solubles	205
Discussions	206
III - B : Impact des conditions estivales de croissance sur la résistance au gel des différents organes de l'arbre.....	213
Introduction.....	213
Résultats.....	215
3.B.1 Variation de la résistance au gel suite à l'application des différents traitements estivaux	215
3.B.2 Formation de la glace : température de nucléation	222
3.B.3 Relation entre la teneur en glucides et la résistance au gel des différents organes de l'arbre ...	224
Discussions	231
Chapitre IV : Validation des effets des stress estivaux sur la résistance au gel et la teneur en glucides du noyer adulte en verger	239
Introduction.....	241
Résultats.....	241
4.1 Description du développement des différentes charpentières	243
4.2 Impact des traitements 'défoliation' et 'annélation' sur la teneur en glucides et la résistance au gel des rameaux de l'année des charpentières traitées	245
4.3 Relation entre résistance au gel (LT ₅₀) et teneur en glucides des rameaux de l'année.....	249
Discussions	250
<u>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</u>	<u>255</u>
<u>ANNEXES</u>	<u>263</u>
Annexe A1 : Solutions et enzymes utilisées pour les dosages enzymatiques des glucides.....	265
Annexe A2 : Programmes de gel/dégel des 'Freeze-box'.....	269
Annexe A3 : Expérimentations complémentaires	271
Annexe A4 : Microscopie optique : exemple de photos de pivot et de racines fines.	273
Annexe A5 : Articles publiés durant la thèse	275
Annexe A6 : Liste des posters, congrès et séminaires réalisés durant la thèse	277
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</u>	<u>279</u>

Remarque sur la numérotation des figures et des tableaux

Les numéros des figures ou des tableaux de ce manuscrit auront la forme suivante :

- Pour la partie « synthèse bibliographique », le numéro des figures ou des tableaux sera précédé de *sb* pour synthèse bibliographique (ex. *figure sb.1*).
- Pour la partie « matériels et méthodes », le numéro des figures ou des tableaux sera précédé de *m* pour matériels et méthodes (ex. *figure m.1*).
- Pour la partie « résultat », le numéro des figures ou des tableaux sera précédé du numéro en chiffre romain du chapitre (ex. pour le chapitre I : *figure I.1*).

De plus, pour chaque partie et chaque chapitre de la partie résultat, cette numérotation repartira de 1.

Avant Propos

Cette étude a été cofinancée par le Département Santé des Forêts du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et de la Ruralité et par le Département Environnement et Agronomie de l'Institut National de la Recherche Agronomique. Elle a été conduite au sein de l'Unité Physique et Physiologie Intégratives de l'Arbre Fruitier et Forestier de l'I.N.R.A. de Clermont-Ferrand/Theix (UMR 547, INRA-Université Blaise Pascal), sous la direction de Thierry AMEGLIO.

Le P.I.A.F., devenu l'U.M.R. P.I.A.F. en janvier 2000, aborde le fonctionnement de l'arbre sous l'angle écophysiological. L'unité se consacre aux grandes fonctions physiologiques en relation avec les conditions du milieu, principalement les facteurs lumineux, hydrique, thermique, mécanique, et plus récemment minéral. Ces facteurs sont abordés à différentes échelles, allant de l'arbre entier jusqu'aux niveaux tissulaire, cellulaire, et moléculaire.

Dans ce cadre, mes travaux de thèse concernent l'endurcissement au gel des arbres, et plus particulièrement, l'impact des conditions estivales de croissance (stress hydrique, défoliation, carence azotée, ombrage, ...) sur la résistance au gel des arbres. Ce thème est abordé à l'échelle de l'organe et de la plante entière ; toutefois, une partie concerne également l'échelle cellulaire et tissulaire.

Introduction générale



Contexte



n 2003, les forêts françaises ont subi une période estivale présentant de très hautes températures, associée à des déficits hydriques très importants. Ce phénomène extrême et inédit a été ressenti sur une grande partie de l'Europe centrale et occidentale et a provoqué des dégâts importants dans les forêts. En effet, l'été 2003 a non seulement été remarquable par la durée prolongée du manque de précipitations et de disponibilité en eau, mais également par les températures extrêmement élevées ainsi que de hautes valeurs d'insolation (Rebetez *et al*, 2006). Suite à cette canicule, le Département Santé des Forêts du Ministère de l'Agriculture fit le constat que « nous manquions de références pour évaluer toutes les conséquences de tels phénomènes extrêmes » (DSF, 2003). En effet, la sécheresse édaphique de l'été 2003 a entraîné chez de nombreuses espèces, sans exclure les risques d'embolie qui ont pu altérer une partie des structures pérennes (Cruiziat *et al*, 2003), la disparition précoce du feuillage, et par conséquence, une diminution de leurs réserves glucidiques. Les arbres affaiblis pourraient avoir des capacités moindres à supporter d'autres stress abiotiques ou biotiques dans les années futures.

Parmi ces risques potentiels, l'un nous a semblé particulièrement préoccupant pour les hivers succédant à des événements extrêmes : ce sont les capacités des arbres à s'endurcir au gel. C'est sur ce dernier point que notre étude s'est proposée d'acquérir les références qui manquent actuellement pour évaluer pleinement les risques de dépérissement suite à de tels événements. En effet, la littérature montre que l'acquisition de la résistance au gel ne s'acquière que progressivement au cours d'une phase d'endurcissement directement liée à la gestion des réserves carbonées (Frossard et Lacoïnte, 1988 ; Sauter *et al*, 1996). On peut donc craindre que des arbres, appauvris en réserves glucidiques, n'arrivent pas à s'endurcir suffisamment pour résister aux températures gélives de l'hiver.

Plus généralement, les interactions entre les conditions climatiques durant la période de croissance des arbres et les conditions de survie de ceux-ci sur plusieurs saisons, nous semble le cadre d'étude indispensable pour appréhender les risques potentiels de dépérissement forestier dans un contexte climatique de réchauffement global lié aux gaz à effet de serre.

Objectif et déroulement du travail de thèse

Ce travail de thèse a cherché à caractériser la résistance au gel et l'état d'endurcissement des différents tissus et organes d'un arbre, en liaison avec le statut carboné des tissus ou organes, induits par des conditions de cultures estivales contrastées. Le modèle végétal choisi est le noyer (*Juglans regia* L. cv. Franquette et un hybride *Juglans regia* L. × *Juglans nigra* L. NG38).

Une synthèse bibliographique sur les réserves glucidiques et la résistance au gel chez les ligneux, a tout d'abord été menée pour faire le point sur les connaissances actuelles. Elle correspond à la première partie de ce manuscrit.

La deuxième partie expose le matériel végétal et les méthodes utilisés pour répondre à notre objectif de travail.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans la troisième partie. Au cours de notre étude, l'évaluation de la résistance au gel a mis en avant la nécessité d'adapter la méthode aux échantillons de noyer. Le premier chapitre de cette troisième partie montrera comment les mesures de résistance au gel ont été réalisées. Nous avons également évalué plusieurs méthodes avant de choisir la plus adaptée à l'estimation de la résistance au gel de nos échantillons.

Une étude sur noyers adultes en verger a ensuite été engagée afin de rechercher les critères physiologiques et environnementaux pouvant expliquer l'évolution de la résistance au gel durant la période sans feuille. Dans ce deuxième chapitre, nous comparons le niveau d'endurcissement au gel et les teneurs en glucides d'une variété fruitière et d'un hybride à bois pour deux lieux de culture différents (plaine (339 m) et semi-montagnard (889 m)). Nous proposerons ainsi un modèle simple permettant de décrire l'évolution de la résistance au gel des arbres durant la période sans feuille.

Par la suite, nous avons voulu vérifier si les corrélations entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles des organes, mis en évidence dans le chapitre II, pouvaient s'observer pour une large gamme de conditions estivales de croissance. Les travaux ont alors été réalisés sur de jeunes noyers (cultivar Franquette). Nous avons donc cherché à modifier artificiellement les teneurs en glucides en appliquant divers conditionnements durant l'été. Nous avons, dans un premier temps, caractérisé ces différents traitements en terme de

croissance et de bilan de carbone pour les différents organes de l'arbre (Chapitre III.A). Puis, nous avons analysé les conséquences de ces variations glucidiques sur le processus de résistance au gel des arbres (Chapitre III.B).

Pour terminer, les travaux de manipulation du statut carboné réalisés sur de jeunes noyers ont été répétés sur des noyers adultes en verger (Chapitre IV) afin de vérifier la généralité des résultats obtenus.

Pour finir, la conclusion générale reprend les principaux résultats et développe les nombreuses perspectives ouvertes par ce travail.

Synthèse Bibliographique



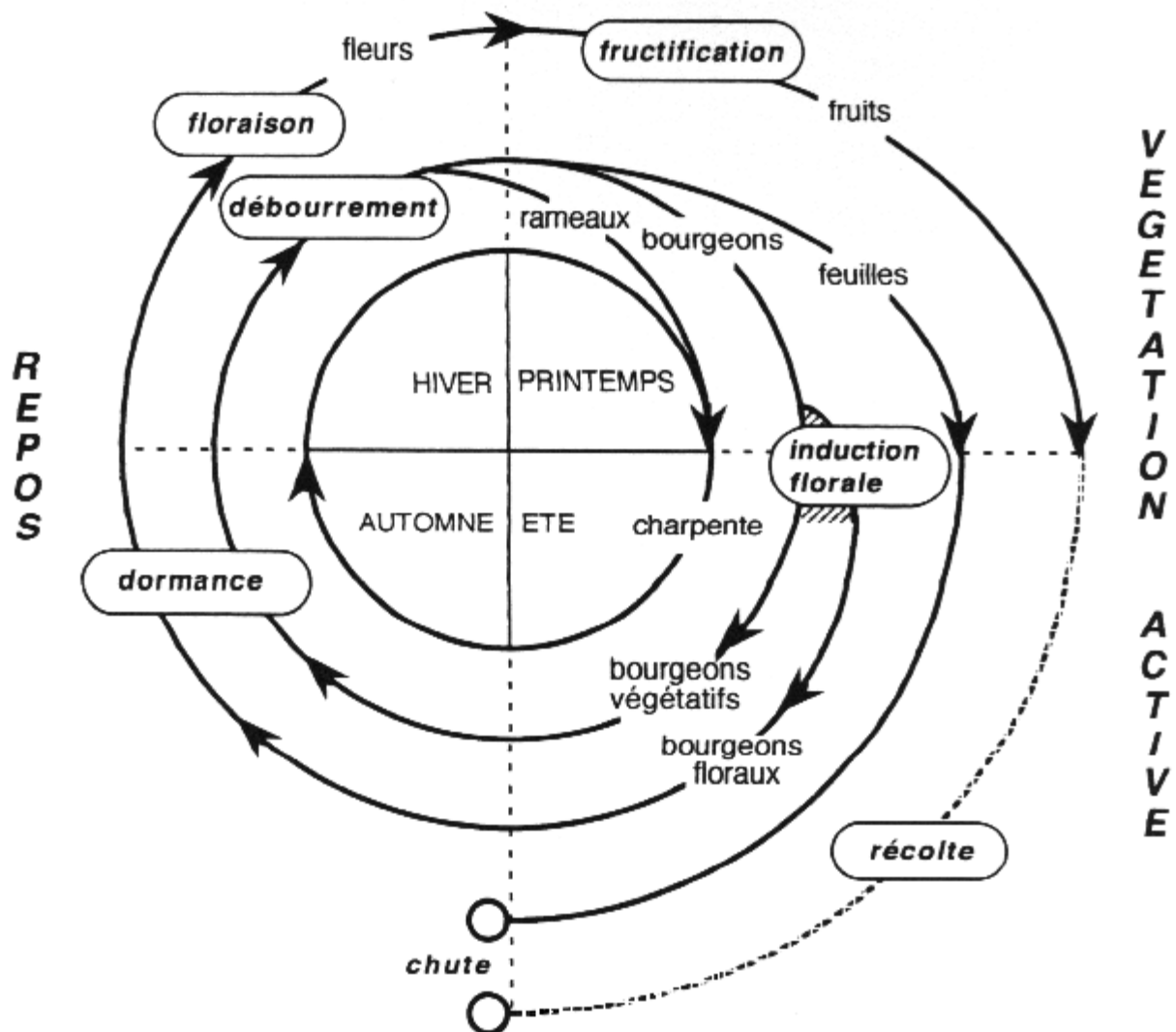


Figure sb.1 : Cycle biologique de l'arbre : Principales étapes : (Figure tirée du rapport d'activité scientifique, période 1991-1994, de l'Unité Associée Bioclimatologie-PIAF).

La pérennité des arbres est caractérisée :

- par la succession dans le temps de cycles annuels ; chaque cycle étant lui-même une suite chronologique d'étapes correspondant à des stades de développement et des modalités de fonctionnement différents mais non indépendants. De plus, deux cycles annuels successifs se chevauchent partiellement. C'est le cas des organes reproducteurs, initiés au cours de l'été, qui n'achèveront leurs évolutions que pendant l'année n+1.

- par la mise en place d'organes et la présence de mécanismes assurant la transition d'une saison de végétation à la suivante (la dormance des bourgeons, le stockage de réserves mobilisables à plus ou moins long terme ou encore la lignification des structures).

Introduction

Le cycle de développement des arbres à feuilles caduques en région tempérée est marqué par l'existence de deux phases bien distinctes. La première, la phase feuillée, est essentielle à l'arbre. Elle permet la fabrication et la mise en réserve des composés qui seront utilisés par celui-ci pour son métabolisme d'entretien, sa croissance et son développement (*figure sb.1*).

La seconde, la phase non-feuillée, prépare l'arbre à une nouvelle période de croissance et lui permet de passer la période froide. En effet, pour de nombreuses plantes des régions tempérées, le froid est un facteur nécessaire au développement, conditionnant la germination des graines, le débourrement des bourgeons ou l'aptitude à fleurir. L'alternance des saisons, et en particulier le cumul des températures froides durant l'hiver est donc indispensable au bon développement de ces végétaux sous ce type de climat.

Dans une première partie, nous nous focaliserons sur les réserves glucidiques. Avant de montrer que la localisation des réserves carbonées dans l'arbre fait intervenir de nombreuses structures cellulaires différentes, nous verrons que la nature biochimique des réserves peut être très variable selon les espèces. Nous montrerons également que certains facteurs de l'environnement peuvent modifier la mise en réserve et que les réserves glucidiques varient au cours des saisons. Enfin, nous mettrons en évidence le caractère primordial de l'utilisation des réserves pour le développement de l'arbre (survie hivernale, croissance, entretien). La deuxième partie de cette synthèse bibliographique se concentrera sur la résistance au gel des arbres. Après avoir précisé certaines notions sur la température d'un organe, ainsi que sur les risques de gel, et montré que les très basses températures peuvent provoquer de graves séquelles aux arbres, nous définirons les différents mécanismes utilisés par les plantes pour résister au gel (évitement par surfusion et tolérance). Nous verrons par la suite que l'acclimatation au gel est un processus saisonnier complexe qui provoque de nombreuses modifications au sein de l'arbre. Enfin, nous montrerons que des essais de modélisation ont déjà été proposés et nous en dégagerons les intérêts et les limites de ces modèles.

1 Les réserves glucidiques chez les ligneux en zone tempérée

Selon Priestley (1970), le terme de "réserve" s'applique aux matériaux produits en excès par rapport aux besoins courants et qui peuvent être, plus tard, utilisés comme support

du métabolisme et de la croissance. Cette vision communément acceptée des réserves des arbres, selon laquelle seule la croissance serait dotée d'une "force de puit" active, la mise en réserve n'étant qu'un "trop plein" passif tamponnant les aléas de la disponibilité en assimilats, semble s'infirmen en partie. En effet, il émerge depuis quelques années une vision plus active du fonctionnement des réserves, les dotant d'une "force de puit" à part entière pouvant s'exercer au détriment des autres puits (Kajji, 1992 ; Lacointe *et al*, 1995 ; Lacointe *et al*, 2004 ; Daudet *et al*, 2005 ; Lacointe, 2007 ; Silpi *et al*, 2007). Chez les arbres à feuilles caduques, l'accumulation des substances de réserve en fin de saisons de croissance est, sous un climat tempéré, un phénomène essentiel. Elle permet la survie en l'absence de feuille pendant la saison froide (Tromp, 1983) en assurant le maintien de la respiration (Kramer et Kozlowski, 1979b). Au printemps suivant, ces réserves permettent d'alimenter en substrat les bourgeons et les nouveaux tissus en croissance lors de la reprise d'activité au printemps. Parfois, elles rendent possible la formation de nouvelles feuilles pendant l'été (Glerum et Balatinecz, 1980).

Parmi les différentes substances de réserve (glucides, lipides, acides aminés et protéines), les glucides sont la forme la plus abondante et la plus étudiée chez les plantes (Kramer et Kozlowski, 1979). Les avis diffèrent quand à savoir si certaines régions de l'arbre sont spécialisées dans la mise en réserve ou si, au contraire, la mise en réserve carbonée se fait de manière diffuse dans l'arbre, sans favoriser des organes précis. Les mobilisations saisonnières des glucides de réserve contenus dans les différents territoires de la plante ont été étudiées par de nombreux auteurs (Kramer et Kozlowski, 1979 ; Wargo, 1979 ; Glerum et Balatinecz, 1980 ; Nelson et Dickson, 1981 ; Tromp, 1983 ; Kajji, 1992 ; Moing *et al*, 1994 ; Barbaroux, 2003). Elles sont liées aux différentes phases de gestion du carbone dans la plante, qui dépendent de la succession des stades phénologiques propres à chaque espèce, de l'âge de la plante et des facteurs climatiques de son environnement (photopériode, température, eau, ...).

1.1 Nature biochimique des réserves

La nature biochimique des réserves est assez variée. L'analyse bibliographique révèle que ce sont les glucides qui ont fait l'objet d'investigations importantes.

1.1.1 Amidon et sucres solubles

Chez les arbres, la forme de stockage des glucides est l'amidon. On trouve également des sucres solubles, tels que le glucose, le fructose et le saccharose (*figure sb.2*) qui jouent le

rôle de réserve au sens défini précédemment. Il existe un équilibre dynamique entre la quantité d'amidon et la quantité de sucres solubles présentes dans la cellule ou ses compartiments. Mais en fonction de l'espèce, certaines formes solubles peuvent être prédominantes. Il en est ainsi du saccharose chez *Pinus strobus* L., du saccharose et du fructose chez *Populus euramericana* L. (Jourdan, 1980), du raffinose chez le mûrier, du stachyose chez le frêne ou certains pins, du sorbitol chez *Malus domestica* L. et chez *Prunus armeniaca* L. (Bieleski et Redgwell, 1977). Pour les racines, l'amidon est la forme de réserve principale (Glerum et Balatinecz, 1980 ; Tromp, 1983). Par exemple, pour la variété de pommier Murneek, le rapport entre amidon et sucres solubles dans les racines est compris entre 3 et 4 (Tromp, 1983).

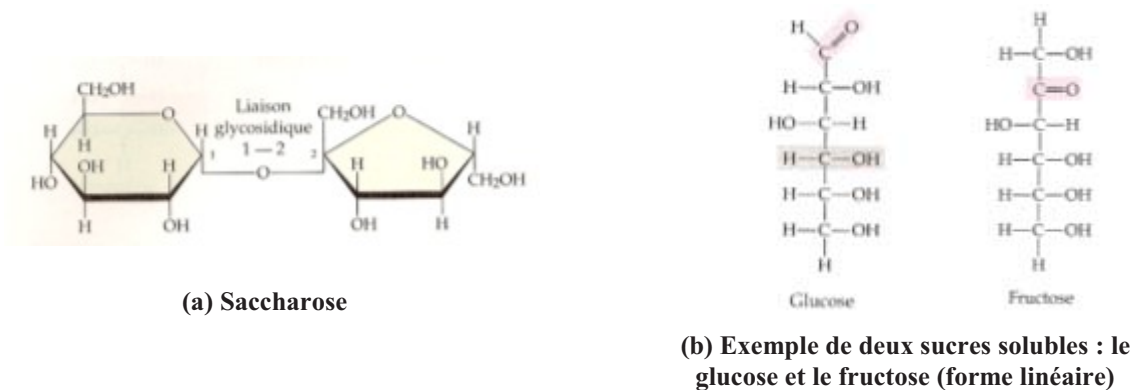


Figure sb.2 : Exemple de molécules de réserve. (a) Le saccharose, un disaccharide, est formé d'une molécule de glucose (b : forme linéaire) et de fructose (b : forme linéaire) (Campbell, 1995).

Les avis sont partagés quand à l'importance des hémicelluloses comme substances de réserve (Priestley, 1962). Stassen *et al* (1981) observent, 6 semaines avant récolte sur pêcher, une conversion de l'amidon et des hémicelluloses en sucres solubles dans les bois et les feuilles, puis une mobilisation et une utilisation de ces sucres solubles dans la maturation du fruit. Dans ce cas, les hémicelluloses ont un rôle de réserve si on se réfère à la définition de Priestley (1970), donnée dans l'introduction du chapitre (Stassen *et al*, 1981).

1.1.2 Autres composés de réserve

Deux types de composés azotés sont étudiés en tant que forme de réserve : les protéines et les acides aminés. Ainsi, l'arginine domine chez les rosacées, la proline chez les rutacées. Le platane, le marronnier et l'érable possèdent des réserves azotées représentées par d'autres formes solubles telles que les uréides (Bory, 1986).

Dans les années 1980, des protéines de réserve de l'azote (VSP : *Vegetative Storage Proteins*) ont été identifiées dans les organes végétatifs des plantes ligneuses (Stepien *et al*,

1994). A la suite de cette découverte, de nombreuses recherches ont été réalisées sur les protéines de réserve au niveau cytologique, biochimique et moléculaire (Van Cleve *et al*, 1988 ; Wetzel *et al*, 1989 ; Clausen et Apel, 1991 ; Langheirich et Tischner, 1991 ; Stepien et Martin, 1992 ; Zhu et Coleman, 2001a, b). L'accumulation des VSP dans l'arbre serait contrôlée par des stimuli externes, tels que les températures et la longueur des jours (Clausen et Apel, 1991 ; Coleman *et al*, 1991 ; Langheirich et Tischner, 1991 ; Coleman *et al*, 1992 ; Coleman et Chen, 1993). Les arbres accumulent des VSP lorsque les températures sont chaudes et lorsque la durée des jours est longue. Récemment, des travaux ont montré que les fluctuations saisonnières des VSP sont analogues entre une espèce d'arbres tropicaux (*Swietenia macrophylla* L.) et une espèce d'arbres des régions tempérées (*Populus canadensis* L.), suggérant que le profil des fluctuations saisonnières de ces protéines, dans la plante entière, pouvait jouer un rôle dans la rythmicité annuelle de la croissance des arbres (Tian *et al*, 2003 et Tian *et al*, 2005).

Certaines catégories lipidiques, comme les triacylglycérols, les phospho- et les galactolipides, sont également des réserves énergétiques engagées dans les processus de résistance au gel et de reprise de croissance au printemps. Ils sont surtout abondants chez les espèces à feuillage persistant. Quelques feuillus (*Tilia*, *Populus*, *Alnus*) sont capables d'accumuler des lipides, surtout lorsqu'ils sont soumis à des froids hivernaux intenses (Bory, 1986).

1.2 Localisation des réserves dans l'arbre

1.2.1 Les tissus de réserve

Toutes cellules vivantes, en continuité avec les éléments conducteurs, peuvent participer au stockage des réserves, pourvu qu'elles n'aient pas une spécialisation incompatible avec cette fonction (Ziegler, 1964). Il s'agit concrètement de toutes les cellules parenchymateuses, à commencer par la source productrice : les parenchymes foliaires. Sont concernés aussi bien les parenchymes primaires (moelle, écorce) que secondaires (libériens et ligneux). Les fibres vivantes constituent également un lieu important de stockage. Glerum et Balatinecz (1980) montrent que les cellules parenchymateuses vivantes qui sont en continuité avec les voies de transports (rayons ligneux et libériens, les parenchymes verticaux, la moelle juvénile) peuvent toutes participer au stockage. Les rayons du xylème secondaire des végétaux ligneux ont un rôle important à jouer dans la mise en réserve des glucides. Dans le bois de certaines espèces, comme chez *Populus × canadensis* Moench "*robusta*", ils représentent le principal tissu de réserve, puisque le parenchyme axial s'y trouve en quantité

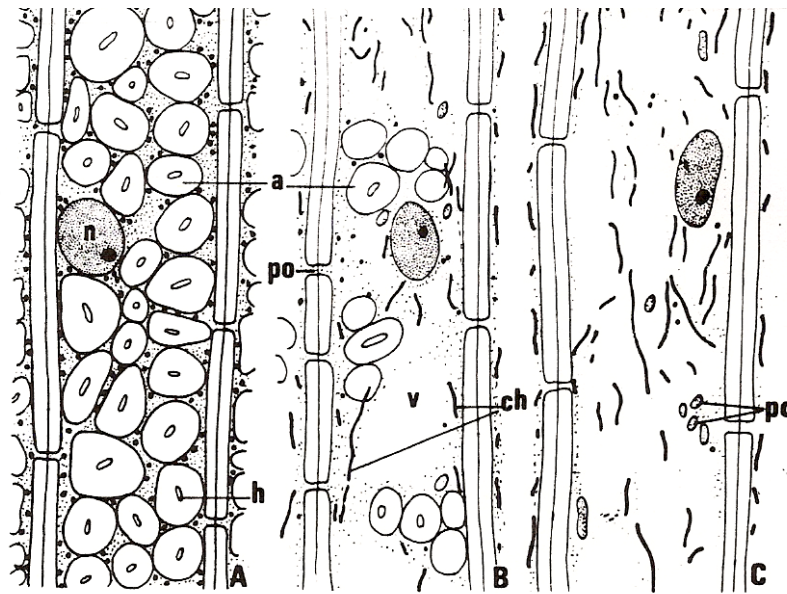
insignifiante (Sauter et Kloth, 1987). Chez *Acer saccharum* L., les fibres vivantes sont abondantes dans les racines et constituent un lieu important d'accumulation de l'amidon (Wargo, 1979). Chez les dicotylédones, la structure des rayons du bois varie avec l'âge de la plante, les rayons devenant de plus en plus spécialisés.

Chez les végétaux à système paratrachéal (certaines cellules du parenchyme sont en contact avec les vaisseaux) tel que le noyer, le parenchyme xylémien est constitué de deux types de cellules vivantes : les cellules associées aux vaisseaux (CAVs) (Alves *et al*, 2001), qui sont spécialisées dans les échanges avec les vaisseaux, et les cellules à réserve qui sont spécialisées dans le stockage.

1.2.1.1 Cellules à réserve du parenchyme xylémien

Les cellules à réserve des rayons xylémiens sont les 'cellules isolées' décrites par Sauter (1972). Toutes les cellules des rayons communiquent entre elles par des plasmodesmes qui traversent leur paroi (*figure sb.3*). Ces 'cellules isolées' possèdent tous les caractères des cellules à réserve. Ce sont des cellules vivantes aux parois lignifiées relativement épaisses. Elles communiquent entre elles, ou avec les CAVs, grâce à de nombreuses ponctuations. Chez le noyer, elles sont riches en amidon et présentent de nombreuses connections symplasmiques avec les cellules qui les entourent, notamment les CAVs (Alves *et al*, 2001). Les cellules à réserve se distinguent des CAVs par un cytoplasme dense et un rapport nucléocytoplasmique faible (Czaninski, 1968).

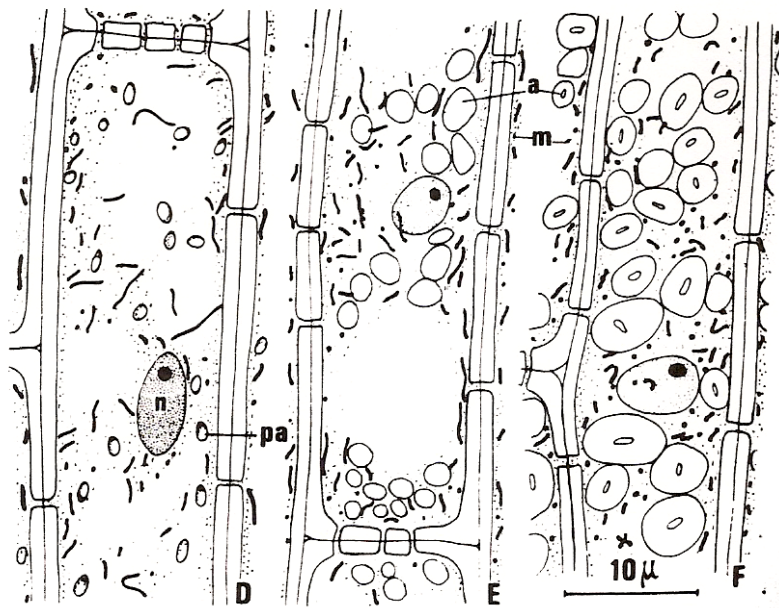
Chez les ligneux, les réserves carbonées sont présentes majoritairement sous la forme de grains d'amidon stockés dans les amyloplastes. Leur accumulation, dès l'été dans les cellules à réserve du parenchyme xylémien, est un phénomène connu depuis très longtemps. Ces dépôts d'amidon, ainsi que les plastes qui les renferment, subissent des modifications saisonnières, ce qui est un caractère typique des cellules à réserve (Czaninski, 1968) (*figure sb.3*). Au printemps, alors que l'activité végétative demeure importante, les grains d'amidon se fragmentent et sont hydrolysés progressivement. Les plastes des cellules formés les années précédentes redeviennent chlorophylliens, les lamelles se développent dans leur stroma (Czaninski, 1968). Dès le début de l'été, alors que les nouveaux rameaux ont presque totalement achevé leur croissance, on observe l'apparition massive d'amyloplastes qui se poursuit jusqu'à l'automne. Les dépôts d'amidon sont alors importants et occupent entièrement les plastes dont le stroma ne présente aucune lamelle visible. Au moment de l'entrée en dormance, la consommation des glucides est réduite alors que les feuilles matures produisent encore des photoassimilats qui sont donc disponibles pour une mise en réserve



A : Janvier. – La cellule est remplie d'énormes grains d'amidon entre lesquels le cytoplasme dense renferme de très petites vacuoles et un chondriome ponctiforme. Cet aspect hivernal se rencontre en générale de décembre à mars.

B : Mai. – Cellule différenciée l'année précédente dans laquelle l'amylyse s'achève. Le chondriome s'est allongé par association des granules mitochondriaux ; Les vacuoles occupent un volume important.

C : Mai. – Cellule récemment différenciée renfermant de longs chondriocystes sinueux et des plastides chlorophylliens qui n'ont pas encore élaboré d'amidon.



D : Juin. – L'amylogénèse commence, les plastides se chargent d'amidon. Le chondriome présente des éléments allongés, le volume des vacuoles est important.

E : Septembre. – Les grains d'amidon deviennent volumineux, le chondriome est formé d'éléments plus courts.

F : Octobre. – Tandis que l'amylogénèse s'achève, le chondriome se morcelle ; à la fin du mois de novembre, il sera essentiellement composé de mitochondries.

Figure sb.3 : Fragment de cellules du parenchyme vertical à réserve vues en section radiale chez le robinier (Czaninski, 1968). *a* : amidon, *cf* : chondriocyste, *h* : hile, *m* : mitochondrie, *n* : noyau, *pa* : plaste amylofère, *pc* : plaste chlorophyllien, *po* : ponctuation.

dans le parenchyme xylémien des tiges (Nelson et Dickson, 1981). Pendant l'hiver, les plastes conservent leur structure d'amyloplaste, bourrés d'amidon (de décembre à mars chez *Robinia*, Czaninski, 1968), mais fréquemment une hydrolyse partielle ou totale intervient dans les parenchymes consécutivement aux basses températures (Sauter, 1967 ; Sauter, 1972 ; Essiamah et Eschrich, 1985).

Outre leur rôle de stockage, les cellules à réserve du parenchyme xylémien sont aussi clairement spécialisées dans le transport radial de molécules organiques ou minérales (Zimmermann et Brown, 1981).

1.2.1.2 Cellules associées aux vaisseaux (CAVs)

Les CAVs sont des cellules vivantes. Elles constituent un type particulier de cellules du parenchyme xylémien dont les caractères cytologiques sont relativement constants au cours de l'année (Czaninski, 1966). Le noyau est volumineux. Le cytoplasme est dense avec un réticulum endoplasmique bien développé, de nombreux ribosomes, mitochondries et peroxysomes et peu ou pas d'amyloplast (Alves *et al*, 2001) (*figure sb.4*).

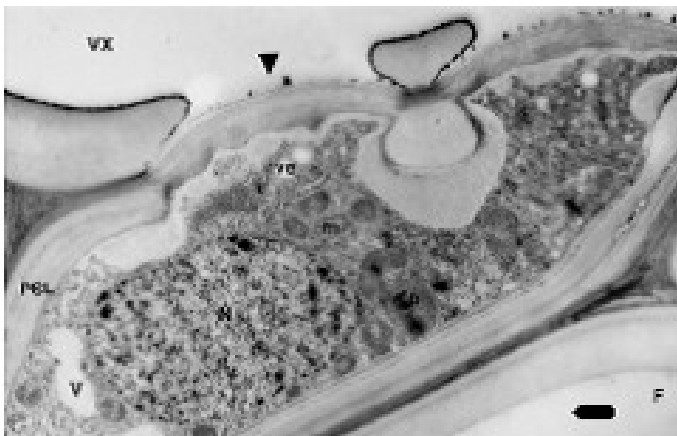


Figure sb.4 : Coupe transversale d'une cellule associée aux vaisseaux de noyer (microscopie électronique à transmission). F : Fibre, m : mitochondrie, N : noyau, p : plaste, PSL : paroi secondaire lignifiée, v : vacuole, ve : vésicule, VX : vaisseau du xylème. La pointe de flèche indique la localisation d'une ponctuation. La barre horizontale représente 1µm. (Alves *et al*, 2001)

Les parois des CAVs sont peu épaisses et présentent de larges ponctuations sur leur face en contact avec un vaisseau du xylème. Les CAVs établissent des zones de contact différentes selon la nature des cellules voisines. Entre deux CAVs ou entre une CAV et une cellule à réserve du parenchyme, il existe des plasmodesmes permettant des échanges par voie symplasmique (Czaninski, 1979 ; Alves *et al*, 2001). Dans la zone de la ponctuation, la paroi primaire est uniquement pectocellulosique ce qui facilite les échanges avec la sève xylémienne. Les échanges entre CAVs et vaisseaux nécessitent un passage à travers la membrane plasmique. Selon les espèces, les vaisseaux du xylème peuvent être entourés par un

nombre plus ou moins important de CAVs. Chez le noyer, les vaisseaux du xylème sont la plupart du temps entièrement entourés par plusieurs CAVs (Alves *et al*, 2001).

Les CAVs déversent des substances osmotiquement actives (des sucres par exemple) dans les vaisseaux et contribuent ainsi, en l'absence de transpiration foliaire, à la toute première montée de sève au début du printemps (Braun, 1984). Elles participent également aux mécanismes de défense de la plante en développant, par exemple, des thylles, afin d'obstruer un vaisseau ayant perdu sa fonctionnalité suite à une blessure ou à une attaque par un pathogène (*figure sb.5*). Ainsi, les thylles correspondraient à une protubérance des CAVs dans la lumière des vaisseaux suite à un accroissement de leur volume cytoplasmique. Les

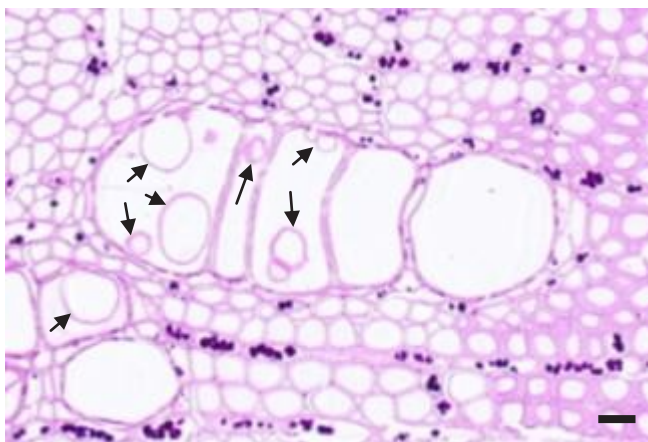


Figure sb.5 : Coupe transversale de vaisseaux du xylème d'un rameau de noyer présentant des thylles (flèches) après un cycle de gel/dégel à -5°C (POIRIER, non publié). Barre horizontale = 20 μm .

CAVs présentent également une forte activité métabolique, à savoir des activités peroxydasique (Czaninski et Catesson, 1969), phosphatasique acide (Czaninski et Catesson, 1969 ; Sauter, 1972), isocitrate déshydrogénase NAD-dépendante, succinate déshydrogénase (Sauter, 1972 ; Alves *et al*, 2001) et alcool déshydrogénase (Sauter, 1972). L'observation de fortes activités enzymatiques dans les CAVs à l'approche du débourrement et pendant la période de débourrement (Sauter, 1972) laisse à penser que les CAVs pourraient, très certainement, avoir un rôle important dans l'échange de solutés entre les parenchymes de réserve et les vaisseaux. Les CAVs sont notamment considérées comme un lieu privilégié d'échanges de sucres. Des travaux récents se sont intéressés à ces échanges de sucres (efflux et influx) (Améglio *et al*, 2004 ; Decourteix, 2005) et d'eau (Sakr *et al*, 2003) entre les CAVs et les vaisseaux du xylème au cours de la période automno-hivernale. Ils montrent que les teneurs hivernales en saccharose dans les vaisseaux du xylème sont principalement influencées par une forte conversion de l'amidon contenu dans le parenchyme xylémien en saccharose, en réponse aux basses températures. L'efflux, défini comme le mouvement des

sucres depuis les CAVs vers les vaisseaux, serait, au moins en partie, une diffusion facilitée réalisée grâce à une protéine sensible à un effecteur des groupements imidazoles des histidines, le DEPC. La corrélation inverse observée entre l'osmolarité de la sève et les températures indique l'existence d'une réabsorption efficace des sucres par les CAVs pour des températures douces ($> +5^{\circ}\text{C}$) (influx) (Améglio *et al*, 2004). De plus, l'utilisation d'un puissant inhibiteur du gradient électrochimique transmembranaire (HgCl_2) met en avant la coexistence, en hiver à $+15^{\circ}\text{C}$, des processus d'influx et d'efflux (Améglio *et al*, 2004). Enfin, il a été montré qu'une part au moins de l'absorption de saccharose par les CAVs est un processus actif et qu'elle augmente significativement en hiver après que le noyer ait été soumis à des températures extérieures inférieures à 0°C (Decourteix, 2005 ; Decourteix *et al*, 2006).

1.2.2 Les organes de réserve

1.2.2.1 Les tiges

Dans les tiges de l'année, les glucides importés sont d'abord incorporés dans les nouveaux tissus, puis sont de plus en plus orientés vers la mise en réserve, sous forme d'amidon (Donnelly, 1976). En générale, la croissance des tiges, quels que soient leurs âges, précède ou coïncide avec la mise en réserve des nutriments (Wargo, 1979). Dans les jeunes tiges de *Populus deltoides* chez qui on a induit la dormance (Nelson et Dickson, 1981), l'accumulation de l'amidon dans les tissus commence peu de temps après le ralentissement de la croissance. Tout au long de la nouvelle tige, les grains d'amidon commencent à apparaître dans les cellules du cortex et des rayons du parenchyme phloémien, puis dans les rayons xylémiens, et enfin dans les cellules de la moelle (Nelson et Dickson, 1981). Les dépôts se font d'abord dans les cellules de la base des tiges. Ils progressent ensuite vers le sommet. Des travaux réalisés chez le prunier, au moment de la chute des feuilles, ont montré l'existence d'un gradient décroissant des teneurs en stachyose et raffinose, mais un gradient inverse de la teneur en amidon, de la base vers le sommet du rameau (Moing *et al*, 1994). Chez le pommier, il existe un gradient croissant des teneurs en sucres solubles et insolubles de la base vers le sommet du rameau (Brunel, 2001).

1.2.2.2 Les racines

De nombreux auteurs se sont demandés si les réserves racinaires jouaient un rôle spécifique. Le critère le plus souvent adopté est la comparaison des teneurs en glucide non structuraux contenus dans les différentes parties de l'arbre. Parfois, la quantité totale

d'hydrates de carbone et la date de leur utilisation sont des données utilisées en complément. Chez les feuillus, les teneurs en glucides (rapportées à la matière sèche totale) sont presque toujours supérieures aux teneurs des autres parties de l'arbre dans les racines (Kajji, 1992 ; Barbaroux, 2002). Après avoir fait assimiler du $^{14}\text{CO}_2$ en septembre à une seule charpentière d'un pêcher, Petrov et Manolov (1973) trouvent les taux de radioactivité les plus élevés en hiver dans l'appareil racinaire alors que le tronc ne contient une radioactivité importante qu'au voisinage de la région de marquage. Keller et Loescher (1989) trouvent, sur merisier, une teneur en hydrates de carbone de réserve supérieure dans les racines : plus de 20% du poids sec. Si on se base sur le critère de la teneur en hydrates de carbone, les racines semblent donc être une zone de réserve principale (Hansen, 1967a, Petrov et Manolov, 1973). Sur merisier, Keller et Loescher (1989) ont montré également que les réserves racinaires ne diminuent pas avant le débourrement alors que les teneurs en hydrates de carbone des parties aériennes décroissent dès la fin de l'hiver. Cet effet est plus marqué pour les parties aériennes proches de puits actifs. Par ailleurs, cet auteur trouve que l'accumulation des réserves commence dans le tronc avant même qu'elles n'aient atteint un minimum dans les racines. Des résultats analogues sont observés sur la vigne (Winkler et Williams, 1945) et sur l'érable à sucre (Wargo, 1979). Cependant, sur pommier, les variations saisonnières de teneur en glucides sont similaires entre les parties aériennes et souterraines. Selon Kandiah (1979), les quelques différences observées entre les variations saisonnières des glucides de réserve des racines et celles des autres parties du végétal pourraient être attribuées à la plus grande proportion de cellules vivantes dans les racines et à leur éloignement par rapport aux sites de la photosynthèse. Les réserves racinaires seront ainsi moins mobilisables (Kramer et Kozlowski, 1979b). Priestley (1964, 1970) et Kandiah (1979) ne pensent pas qu'il y ait une localisation préférentielle des réserves. Tous les territoires de l'arbre contribuent, à un moment ou à un autre, à cette fonction (Glerum et Balatinecz, 1980 ; Tromp, 1983). Les différents points de vue ne sont pas, en réalité, contradictoires. En effet, certains organes sont potentiellement plus de 'réserve' que d'autres s'ils ont plus de cellules parenchymateuses, soit en proportion (teneur), soit en quantité totale (teneur \times masse de l'organe). Ainsi, chez les arbres où les racines présentent généralement une plus grande proportion de cellules vivantes que les tiges, une quantité donnée de racines pourra stocker plus de réserves qu'une quantité équivalente de tiges. En revanche, chez un jeune arbre, tel que le noyer d'un an, le pivot est le principal organe de réserve (Lacointe, 1989) : à la chute des feuilles, les racines contiennent 80% des réserves de la plante. Le pivot est l'organe le plus impliqué dans les phénomènes saisonniers de stockage et de remobilisation (Kajji, 1992). Cependant, compte tenu du rapport

de masses entre la partie aérienne et la partie souterraine d'un arbre adulte, la majorité des réserves se trouve alors dans le tronc et les branches (Barbaroux *et al*, 2003). Par conséquent, avec l'âge, l'allocation de la biomasse se réduit dans les organes souterrains en faveur des organes aériens (Bartelink, 1998 ; Grulke et Retzlaff, 2001).

1.2.3 Effet de quelques facteurs environnementaux sur la mise en réserve

Beaucoup d'études se sont focalisées sur l'influence des facteurs environnementaux sur l'utilisation des réserves glucidiques (Kramer et Kozlowski, 1979a ; Cortes et Sinclair, 1985 ; Sauter et Kloth, 1987 ; McCamant, 1988 cité par Loescher *et al*, 1990). Mais peu de recherches ont été effectuées sur l'impact de ces facteurs sur la mise en réserve des arbres ligneux.

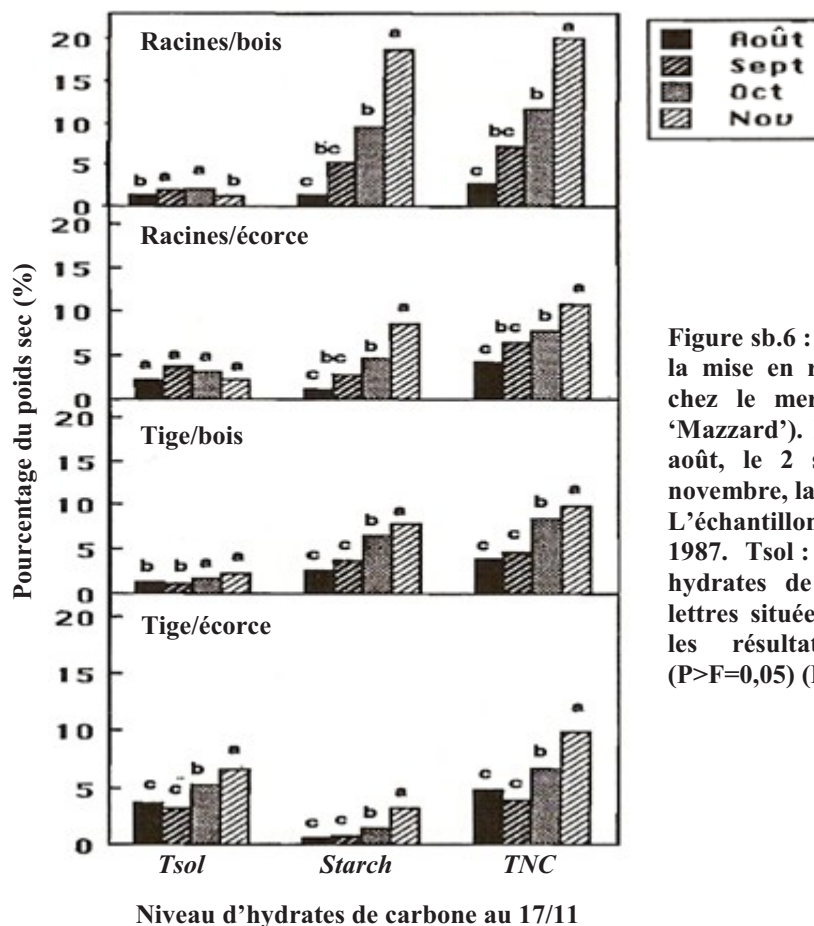


Figure sb.6 : Effet de la date de défoliation sur la mise en réserve des hydrates de carbone chez le merisier (*Prunus avium* 'Bing' on 'Mazzard'). Les plantes ont été défoliées le 4 août, le 2 septembre et le 4 octobre. En novembre, la chute des feuilles est naturelle. L'échantillonnage a été fait le 17 novembre 1987. Tsol : sucres solubles totaux ; TNC : hydrates de carbone non structuraux. Les lettres situées à côté des barres représentent les résultats d'une analyse statistique ($P > F = 0,05$) (Extrait de Loescher *et al*, 1990).

Les réponses aux stress environnementaux peuvent être complexes. Par exemple, Rom et Loescher ont trouvé que des niveaux faibles ou passagers de stress hydrique avaient peu

d'effet sur la photosynthèse du merisier. Ils ont également observé que, malgré le déficit en eau, une augmentation des réserves carbonées avait principalement lieu dans les racines (d'après Loescher *et al*, 1990). D'autres ont montré qu'un stress hydrique (hautes températures combinées à un sol sec) réduisait l'accumulation des hydrates de carbone chez le merisier (Beppu *et al*, 2003).

Ensuite, des défoliations (attaques de chenilles, maladies, grêle,...) peuvent modifier les teneurs en réserves carbonées (Loescher *et al*, 1990) (*figure sb.6*). En effet, chez le merisier, la défoliation réduit nettement les réserves en amidon présentes en novembre dans les racines après l'abscission des feuilles. Lorsque la défoliation a lieu en août, le niveau des réserves en amidon est faible dans tous les tissus (Loescher *et al*, 1990). Chez *Quercus suber*, une défoliation partielle et ponctuelle de fin-juillet n'a aucun d'effet significatif sur la teneur en sucres solubles, d'août ou de novembre, des tiges, des branches et des grosses racines. Par contre, la teneur en amidon est diminuée dans les tiges et les branches en août et dans les grosses racines en novembre (Cerasoli *et al*, 2004).

Enfin, la concentration élevée en CO₂ de l'air favorise l'accumulation et influence la répartition des réserves carbonées dans l'arbre (Wardlow, 1990 ; Feng *et al*, 2001). Chez *Picea abies* L., par exemple, les aiguilles de plants qui croissent dans un environnement enrichi en CO₂ ont une teneur en amidon plus élevée ; leur teneur en sucres solubles n'est pas affectée (Dalen *et al*, 2001). Lorsque l'offre des photosynthétats est accrue par une augmentation de la concentration en CO₂ de l'air, il y a souvent un changement dans la répartition du carbone (Wardlow, 1990). Par exemple, chez le citronnier (Koch *et al*, 1986 cité par Wardlow, 1990) et certaines espèces d'arbres tropicaux (Oberbauer, 1985 cité par Wardlow, 1990), le surplus de carbone est orienté vers les tiges en croissance au détriment des racines. Chez *Picea engelmannii* Parry, un enrichissement de l'air en CO₂ induit une augmentation de la teneur en sucres solubles plus élevée dans les aiguilles que dans les tiges et les racines (Chomba *et al*, 1993). Par contre, chez *Robinia pseudoacacia* L., malgré une augmentation de l'assimilation du C en réponse à une concentration en CO₂ élevée, la répartition du C entre les organes aériens et souterrains n'est pas modifiée (Feng *et al*, 2001). L'effet positif d'une concentration en CO₂ élevée sur les teneurs en glucides se retrouve également chez les herbacées. En effet, chez *Bromus erectus* Hudson (graminée), *Cirsium acaule* Scopoli, *Sanguisorba minor* L., *Salvia pratensis* L. et *Trifolium medium* L. (herbacées), les teneurs en sucres solubles, en amidon et en TNC sont augmentées significativement dans les feuilles (Obrist *et al*, 2001). Les réponses à l'augmentation de la

concentration en CO₂ sont, de plus, dépendantes du type de sol, de la lumière, de l'eau, des nutriments, de l'âge de la plante et de l'espèce (Körner, 2003).

1.3 Variations saisonnières des réserves glucidiques

Les variations saisonnières des réserves glucidiques sous forme d'amidon dans les tissus sont étroitement liées à la teneur en sucres solubles et sont les mêmes chez de très nombreuses espèces de feuillus. Cette évolution a été décrite par différents auteurs aussi bien dans le xylème que dans le phloème, dans les rameaux que dans les racines (Gibbs, 1940 ; Siminovitch *et al*, 1953 ; Wargo, 1971 ; Sauter, 1972 ; Tamassy et Zayan, 1982 ; Fege et Brown, 1984 ; Essiamah et Eschrich, 1985).

1.3.1 Dynamique saisonnière

1.3.1.1 Interconversion amidon/sucres solubles

En hiver, les variations de la teneur en amidon dans les organes aériens sont inversement corrélées à celles de la teneur en sucres solubles, principalement celles du saccharose et de ses produits d'hydrolyse, le glucose et le fructose. Cette interconversion amidon/sucres solubles permet la mise à disposition des réserves accumulées sous forme d'amidon (hydrolyse ou phosphorylation) et inversement, la reconstitution de réserve dense à partir des sucres solubles. Sauter (1988b) a réalisé une cinétique complète de l'évolution de la composition en amidon de branches de peupliers (*Populus × canadensis* "robusta") (figure sb.9). Globalement, les teneurs en amidon suivent un cycle annuel en quatre phases, atteignant à deux reprises des valeurs maximales :

Deux phases de mobilisation intense des réserves et de conversion de l'amidon en sucres solubles

La première a lieu pendant la dormance (entre novembre et février) et contribuerait à la résistance des ligneux aux températures froides. Dans l'écorce du tronc de robiniers noirs, elle est étroitement liée au refroidissement hivernal, entre les mois de novembre et de février (Siminovitch *et al*, 1953). L'amidon disparaît presque complètement des cellules et les teneurs en sucres solubles augmentent (notamment le saccharose, le raffinose et le stachyose). L'autre coïncide avec les périodes de gonflement et de débourrement des bourgeons. Elle permettrait la reprise de la croissance des bourgeons et de l'activité cambiale. Les sucres solubles serviraient alors à la croissance. Ceci a été vérifié dans les tiges et les jeunes branches de peuplier par Bonicel *et al* (1987). Entre ces deux périodes de mobilisation,

l'amidon est re-synthétisé, probablement à partir du saccharose issu de la première hydrolyse (écorce du tronc de robiniers noirs, Siminovitch *et al*, 1953 ; branche de peupliers, Nelson et Dickson, 1981 et Sauter, 1988a).

Deux phases de dépôt de l'amidon

La première commence en été et atteint son maximum en automne. La deuxième a lieu à la fin de la dormance, au moment du réchauffement progressif des températures, un ou deux mois avant le débourrement des bourgeons végétatifs (Sauter, 1988b).

De nombreux exemples de cette interconversion existent dans la littérature. Notamment, chez *Malus domestica* (rameaux longs, Schimpf et Stosser, 1984) ou chez *Prunus armeniaca* (tiges, Tamassy et Zayan, 1982), on constate, de novembre à mars, une nette augmentation des teneurs en sucres solubles simultanément à une diminution de la teneur en amidon. Ces variations peuvent être considérables. Par exemple, Sauter et Kloth (1987) ont mesuré sur le xylème secondaire de branche de peuplier, du mois de novembre au mois de janvier, une augmentation atteignant un facteur de 20 pour le saccharose, un facteur de 10 pour le raffinose, et un facteur de 2 pour le stachyose. En même temps, la quantité d'amidon diminuait de 65%. Les teneurs en glucose et en fructose restaient stables. La quantité de maltose, qui en novembre était le sucre majeur (5,72 µg/mg de poids sec), diminuait de 97% jusqu'à égaler celle du galactose, le sucre le moins bien représenté dans chaque prélèvement (0,14 µg/mg de poids sec en janvier). D'après Siminovitch *et al* (1953) sur l'écorce du tronc de robiniers noirs, Nelson et Dickson (1981) et Sauter (1988a) sur les branches de peupliers, ceci se produit alors que les quantités totales de glucides non structuraux restent constantes. Ces observations plaident en faveur d'une interconversion entre l'amidon et les sucres solubles. On peut d'ailleurs détecter, lors de certaines périodes, une quantité importante et transitoire de maltose, disaccharide issu de l'hydrolyse de l'amidon. Ce maltose serait ensuite transformé en saccharose, puis en galactosides divers (Sauter, 1988a). Enfin, chez des noyers âgés de trois ans, Lacointe *et al* (1993) ont montré que la teneur en amidon diminue entre la chute des feuilles (en novembre) et le mois de janvier. Cette diminution serait due à une transformation de l'amidon en sucres solubles dans les parties pérennes aériennes et les fines racines. Entre janvier et mai, la teneur en amidon diminue, si bien qu'en juin, à la fin de la période de mobilisation, plus du tiers des réserves présentes à l'automne ont disparu. Les réserves formées en automne sont mobilisées lors des toutes premières phases du débourrement et seraient utilisées principalement pour la respiration. Celles formées en été sont mobilisées moins massivement et seraient utilisées

essentiellement comme source de carbone par les jeunes tissus en croissance. Les réserves plus anciennes (2 ans ou plus) sont peu mobilisées (Lacointe *et al*, 1993), mais restent mobilisables.

1.3.1.2 Effets des températures sur l'interconversion amidon/ sucres solubles

1.3.1.2.1 Observations en conditions naturelles

L'hydrolyse hivernale de l'amidon est étroitement liée à l'abaissement des températures, entre les mois de novembre et de février (Siminovitch *et al*, 1953). L'amidon disparaît alors presque complètement des cellules. Les teneurs de la plupart des sucres solubles augmentent, particulièrement celles du saccharose et de ses galactosides (raffinose et stachyose) (Fege et Brown, 1984 ; Sauter et Kloth, 1987). A l'inverse, avec le réchauffement progressif aux mois de mars ou d'avril, l'amidon se dépose à nouveau dans les tissus (chez *Populus balsamifera* L, Bachelard et Wightman, 1973 ; chez *Malus domestica* L., Kandiah, 1979 ; Priestley, 1981) et les teneurs en sucres solubles diminuent, alors que les quantités totales de glucides non structuraux (amidon et sucres solubles) restent pratiquement constantes (Siminovitch *et al*, 1953). Hartmann (1975) observe également de fortes variations de glucides sur les 6 mois d'hiver en relation avec la température chez *Juglans regia* L. (*figure sb.7*). Cet auteur a séparé l'écorce du bois et a constaté que l'hydrolyse de l'amidon est nettement plus importante dans l'écorce que dans le bois.

1.3.1.2.2 Observations en conditions contrôlées

Les observations au champ ont été confirmées par des observations en chambre de culture. Des traitements en laboratoire, par des températures froides (+5°C, +3°C et 0°C), appliqués à des plantes en état de dormance naturelle (Sauter, 1967 ; Sauter et Kloth, 1987), ou induite (Nelson et Dickson, 1981), ont provoqué des modifications, tout à fait comparables, des pools d'amidon et de sucres solubles. De même, Cortes et Sinclair (1985) observent chez *Acer saccharum* que l'hydrolyse de l'amidon est activée entre 0°C et +4°C et inhibée à +15°C et (-4°C). L'application d'une gamme de températures (de +10°C à -2°C), pendant 2 à 4 semaines, sur des tiges de *Populus x canadensis* 'robusta', a permis d'affiner la compréhension de ces phénomènes (Sauter, 1988a). Le contenu en amidon des tissus varie linéairement avec la température du traitement ; quand celle-ci est comprise entre -2°C et

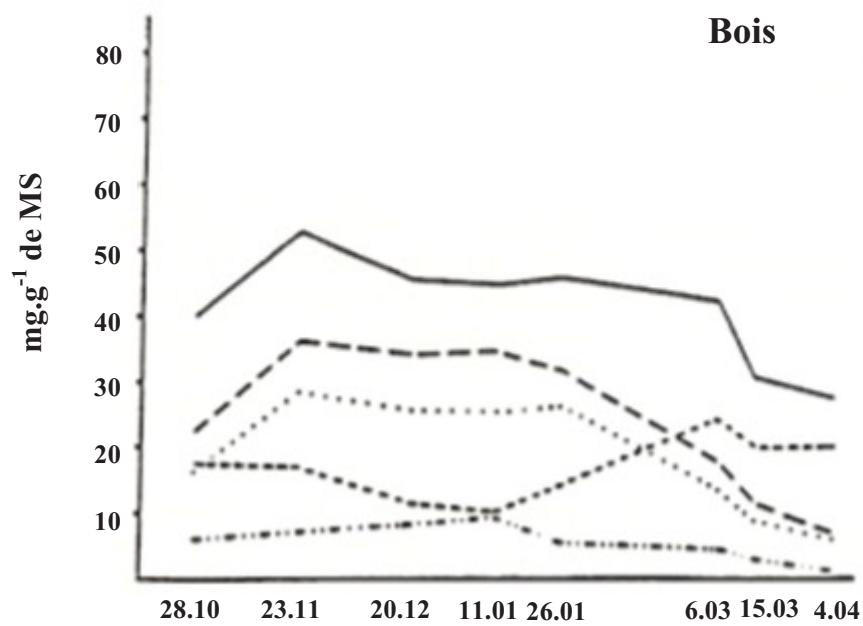
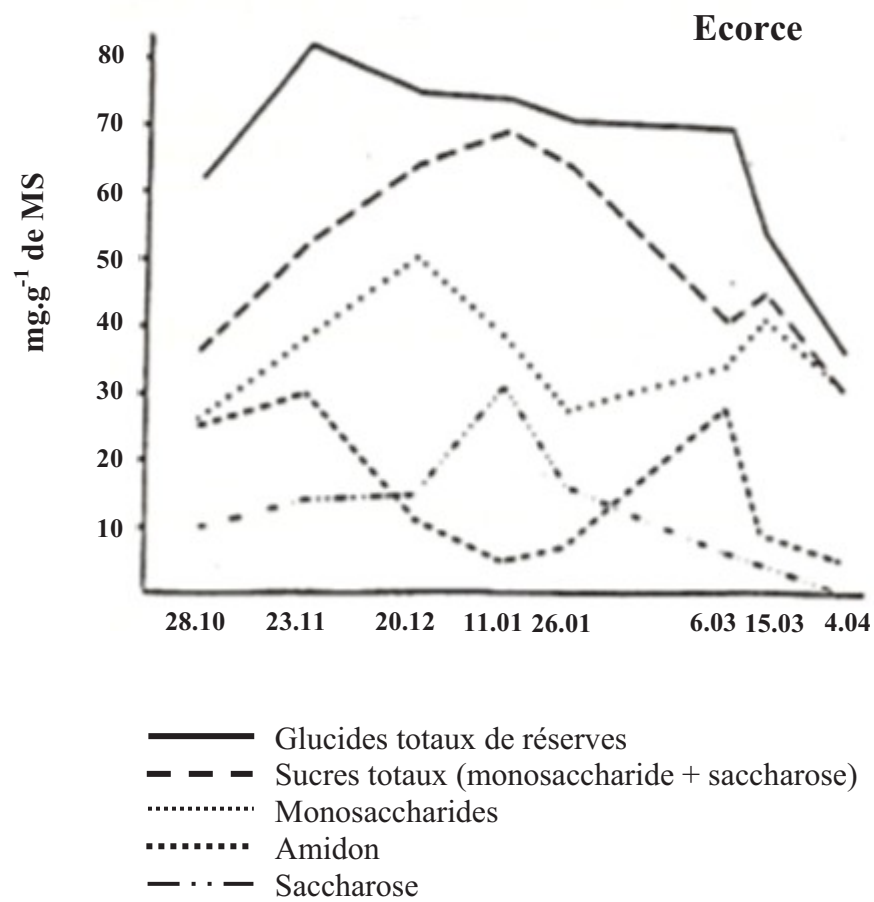


Figure sb.7 : Evolution des teneurs en sucres solubles et en amidon du bois et de l'écorce du milieu de la pousse de *Juglans regia* depuis la chute des feuilles au débourrement (Hartmann, 1975).

+5°C. A -2°C, la disparition de l'amidon ne semble pas plus rapide qu'à 0°C, mais l'hydrolyse paraît prolongée. L'effet des basses températures sur la conversion de l'amidon serait indirect, comme le montre l'analyse des variations des teneurs en divers sucres solubles. En effet, si les quantités cumulées de saccharose, raffinose, stachyose sont en relation linéaire inverse avec les quantités d'amidon, entre +5°C et -2°C, elles semblent également en rapport étroit, et toujours par une relation inverse, avec les quantités de maltose. Dans l'interconversion amidon/saccharose, le maltose, disaccharide issu de l'action d'une amylase sur l'amidon, serait donc présent en quantités importantes à +10°C ou à +5°C. A des températures plus basses (0°C et à -2°C), le pool de maltose serait progressivement transformé en pool de saccharose, ce dernier étant utilisé pour la synthèse de galactosides (Sauter, 1988a).

Des travaux ont également été menés pour des températures plus douces. Sauter (1967) a montré que des troncs de feuillus et de conifères en pleine dormance, placés à +20°C présentent une synthèse d'amidon puis une nouvelle hydrolyse. Sauter et Ambrosius (1986) ont montré que des rameaux de bouleaux (*Betula pendula* L.) prélevés à la fin de l'hiver et placés à +10°C présentent une synthèse suivie d'une hydrolyse d'amidon.

A nouveau, on peut constater que des traitements thermiques, mais cette fois à des températures douces, permettent de reproduire les évolutions observées au printemps en conditions naturelles.

1.3.2 Utilisation des réserves

Les réserves chez les ligneux sont importantes pour différentes raisons :

- Au printemps, les réserves permettent la croissance des nouvelles feuilles et donc le retour à l'autotrophie du végétal (photosynthèse).
- La survie hivernale dépend des substances de réserve (phase hétérotrophe du végétal).

1.3.2.1 Utilisation printanière des réserves

La seconde période d'hydrolyse coïncide avec le gonflement et le débourrement des bourgeons, alors que les températures continuent à augmenter. L'amidon est alors massivement mobilisé et les sucres solubles issus de son hydrolyse sont utilisés dans les tous premiers stades de croissance (Bonicelet *et al*, 1987). Les réserves contribuent à la fourniture d'énergie pour la plante. Ainsi, chez *Malus domestica*, 20% du carbone trouvés dans les nouvelles pousses proviennent des réserves et 80% de la photosynthèse courante (Hansen et Grauslund, 1973). Une étude comparative réalisée sur le hêtre et le chêne adultes (Barbaroux,

2002) montre que, lors de la mobilisation des réserves amylacées au printemps, le hêtre utilise essentiellement les réserves contenues dans les branches alors que les réserves de tous les organes du chêne sont sollicitées. Pour ces deux espèces, la mobilisation des réserves amylacées se produit tout d'abord dans les fines branches au moment du débourrement. Par contre, les réserves du tronc et des grosses racines sont mobilisées jusqu'à la fin de la mise en place des feuilles chez le chêne, alors que le hêtre présente de très faibles variations de teneurs dans ces deux organes (Barbaroux, 2002). D'autres études utilisant les radioéléments montrent que les réserves servant à l'élaboration de nouvelles pousses peuvent provenir d'endroits très éloignés, à savoir les racines (Quinlan, 1969 ; Hansen et Grauslund, 1973 ; Kandiah, 1979). Mais la quantité de réserve provenant des racines et intégrée dans des structures de la partie aérienne est sans doute faible, car cette utilisation est en compétition avec d'autres : perte par respiration, incorporation dans les nouvelles structures racinaires et dans les composés aminés. Cependant, il semble que la contribution des réserves à l'élaboration de nouvelles structures n'est importante que peu de temps. Toujours en utilisant du ^{14}C , Hansen (1971), Hansen et Grauslund (1973) montrent que seul le développement des 5 à 6 premières feuilles du pommier dépend des réserves. Dès que la photosynthèse est suffisante, la plante cesse d'utiliser ses réserves (Glerum et Balatinecz, 1980 ; Kozina, 1986). D'autres travaux sur pommier suggèrent que le taux de croissance des parties aériennes au printemps ne dépend pas de l'importance des réserves (Priestley, 1963). Puisque les réserves sont, en général, en excédant par rapport aux besoins, leur quantité ne serait pas un facteur limitant de la croissance, au moins chez les espèces à floraison tardive. Kajji (1992) montre, chez le noyer, que l'essentiel des réserves est utilisé au printemps où l'on constate une remobilisation préférentielle de l'amidon formé le plus récemment (celui d'octobre par rapport à celui d'août). Une étude récente (Lacointe *et al*, 2004) réalisée sur un noyer formé de deux branches et double marquée radioactivement (une branche ombrée marquée au ^{13}C et une branche en plein soleil marquée au ^{14}C) montre que les réserves locales situées dans la branche porteuse sont mobilisées précocement et systématiquement au profit des nouvelles pousses, mais elles ne peuvent subvenir qu'aux besoins des premiers stades de croissance. De plus, cette étude montre que les zones de réserve majeures de la plante, constituées par le tronc et les grosses racines, mobilisent leurs réserves au profit des jeunes pousses. Cette mobilisation paraît dépendante de la vitesse de croissance de ces dernières, elle-même dépendante de l'environnement lumineux courant. Ces résultats indiquent alors un système très souple, permettant à la fois de répondre à une amélioration de l'environnement local en

donnant aux branches précédemment ombrées une ‘nouvelle chance’, tout en évitant un gaspillage des réserves qui se ferait au profit de branches demeurées ‘peu rentables’.

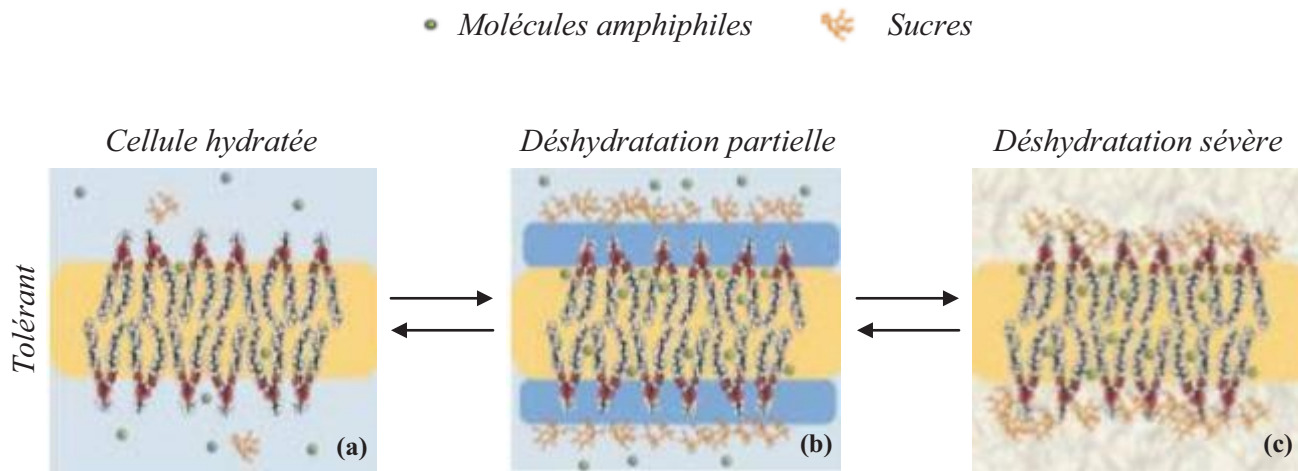
La dépendance vis-à-vis des substances de réserve varie selon les espèces. Ainsi, chez certains ligneux à feuillage caduc de zones tempérées, dont la floraison se fait avant le développement végétatif, la croissance des pièces florales se fait exclusivement à partir des réserves (ex. saule, peuplier, bouleau ou érable, Fowells, 1965 cité par Loescher *et al*, 1990). D’autres espèces à feuillage caduc comme le pommier dépendent moins des réserves pour leur floraison et leur fructification. En effet, les feuilles de cette espèce sont presque pleinement développées avant l’anthèse.

1.3.2.2 Utilisations ultérieures

Chez le pacanier, Lockwood et Sparks (1978a, b) ont trouvé que la plupart des réserves marquées se retrouvent dans les premières feuilles formées. Mais on trouve aussi des réserves marquées dans des feuilles formées ultérieurement ainsi que dans les inflorescences mâles et femelles. Hansen et Grauslund (1973) retrouvent, eux aussi, des réserves incorporées dans les fleurs. D’une manière générale, les réserves sont utilisées quand de forts besoins se font sentir (après un accident comme une défoliation qui supprime toute photosynthèse ou lors de la formation de l’appareil reproducteur). Toutes les réserves formées une année ne sont pas utilisées l’année suivante (Kajji, 1992). En effet, certaines réserves peuvent subsister plusieurs années (Glerum et Balatinecz, 1980 ; Kozina, 1986).

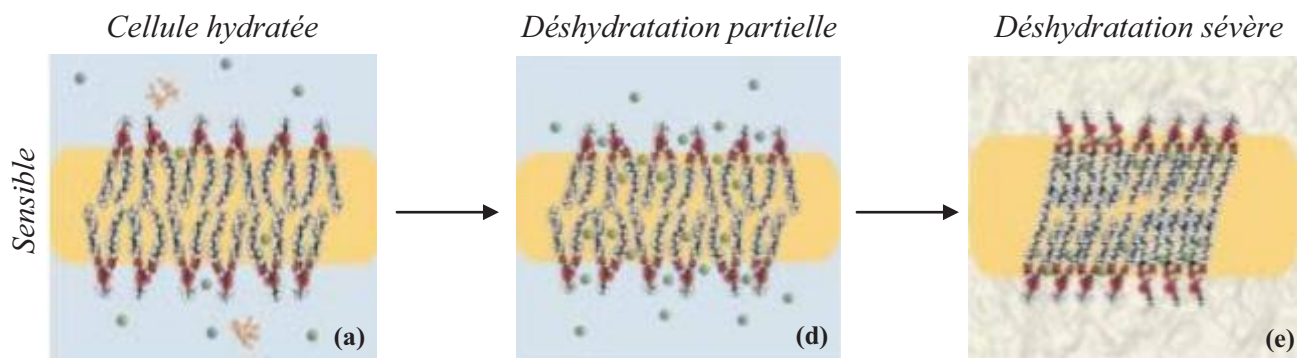
1.3.2.3 Contrôle de l’utilisation des réserves racinaires

Ce point a été très étudié sur les tubercules de topinambours (fructane) ou de pommes de terre (amidon) (Halmer et Bewley, 1982). Mais il y a peu de données sur le contrôle de l’utilisation des réserves racinaires des plantes ligneuses. Les relations entre l’hydrolyse de l’amidon et la dormance ne sont pas claires, même si l’hydrolyse est concomitante à la levée de dormance (Cottignies, 1986 ; Bory et Clair Maczulajtys, 1988). Des gibbérellines et des cytokinines appliquées sur l’arbre provoquent le débourrement mais on ne sait pas si elles agissent directement sur l’hydrolyse de l’amidon (Cottignies, 1986). Toutefois, sur merisier, cette hydrolyse semble être stimulée par l’application d’hormones (McCamant, 1988 cité par Loescher *et al*, 1990).



Cellules tolérantes

- (a) Les cellules sont bien hydratées. Les lipides de la membrane sont dans un état semi-cristallin et ordonné.
- (b) et (d) Lors d'une déshydratation partielle, la concentration des molécules amphiphiles susceptibles de déstabiliser les membranes augmente. (b) La présence de sucres, préférentiellement exclus de la surface des membranes, permet de garder un film d'eau autour des membranes des cellules tolérantes.
- (c) Lors d'une déshydratation sévère, les sucres peuvent interagir avec les membranes, remplaçant ainsi les molécules d'eau et maintenant l'espacement des phospholipides. Les flèches indiquent le caractère réversible de cet effet pour une cellule tolérante.



Cellules sensibles

- (a) Les cellules sont bien hydratées. Les lipides de la membrane sont dans un état semi-cristallin et ordonné.
- (d) Contrairement aux cellules tolérantes, la faible teneur en sucres solubles des cellules sensibles ne permet pas de conserver un film d'eau autour de la bicouche phospholipidique.
- (e) Lors d'une perte en eau plus sévère, on aurait une compaction des phospholipides de la membrane, occasionnant des lésions irréversibles.

Figure sb.8 : Schéma représentant l'effet protecteur des sucres sur les membranes des cellules (Extrait de Hoekstra *et al*, 2001).

1.3.2.4 Rôle des sucres dans la résistance aux stress : Résistance à la déshydratation

La résistance à la déshydratation dépend de la capacité des plantes, ou de l'une de leur forme de dissémination (ex. les graines), à supporter la perte en eau. Elle met en jeu des mécanismes permettant aux macromolécules (structures membranaires, protéiques...) d'être préservées en l'absence d'eau. En réponse à la sécheresse ou à la déshydratation, de nombreuses plantes accumulent des disaccharides (saccharose, tréhalose) (Garg *et al*, 2002 ; Bernacchia et Furini, 2004), des oligosaccharides non réducteurs (tréhalose, raffinose, galactinol) (Taji *et al*, 2002) ou des polyols (mannitol, sorbitol) (Patonnier *et al*, 1999 ; Li et Li, 2005). L'accumulation de ces composés dans les cellules peut accroître la tolérance à la déshydratation chez les plantes par leur « effet osmotique » qui limite les pertes en eau de la cellule. Par exemple, chez le chêne ou le cornouiller, les monosaccharides, particulièrement le glucose et le fructose, seraient majoritairement responsables de l'ajustement osmotique consécutif à un stress hydrique (Gebre et Tschaplinski, 2002). Des peupliers soumis à un stress hydrique présentent un ajustement osmotique compris entre 0,23 et 0,48 MPa dont 48% peuvent être attribués à l'accumulation de solutés organiques, parmi lesquels on trouve le saccharose, le glucose et le fructose (Gebre *et al*, 1994). Dans certain cas, le rôle de ces solutés dans la tolérance à la sécheresse a été démontré comme étant différent de l'effet osmotique. Par exemple, l'augmentation de l'accumulation de mannitol observée chez les plants de *Triticum aestivum* transformés par la mannitol-1-phosphate déshydrogénase (*mtlD*) d'*Escherichia coli* (Abebe *et al*, 2003) serait trop faible pour agir par un effet osmotique. De plus, aucune différence d'ajustement osmotique n'a été constatée entre les plants transformés et les plants sauvages. Dans ce cas, le mannitol aurait plus un « effet protecteur » qu'un « effet osmotique ». En effet, dans le cas où, la déshydratation est modérée, les glucides sont préférentiellement repoussés vers la surface des protéines et des membranes lesquelles se trouveraient alors préférentiellement hydratées (*figure sb.8*) (Hoekstra *et al*, 2001). Si la déshydratation est plus sévère, les sucres, et plus particulièrement les disaccharides non réducteurs, tels que le saccharose, pourraient 'remplacer' l'eau en interagissant avec les groupements polaires des lipides grâce à leurs atomes d'hydrogène (Crowe, 1992 cité par Hoekstra *et al*, 2001).

1.3.3 Reconstitution des réserves amylacées

1.3.3.1 Dynamique à l'échelle de l'arbre

Hartig, en 1858 (cité par Zimmermann et Brown, 1971) avait étudié cette question. Ses résultats concernant le début de l'accumulation sont consignés dans le tableau suivant :

<i>espèces</i>	<i>Dans les racines</i>	<i>Dans les jeunes rameaux</i>
<i>Acer</i>	En mai	début août
<i>Quercus</i>	En juillet	mi-septembre
<i>Larix</i>	En juin	début octobre
<i>Pinus</i>	En septembre	mi-octobre

Il apparaît donc que la date de début d'accumulation des réserves serait variable suivant l'espèce et l'organe : en général, la reconstitution des réserves est plus précoce dans les racines que dans la partie aérienne. Wargo (1979) sur les racines d'érable à sucre et Siminovitch *et al* (1953) sur l'écorce du tronc de robinier observent une accumulation d'amidon dès la fin du mois de juin, alors que Sauter (1988a) note une accumulation d'amidon dans le bois de la tige dès la fin du mois de mai (*figure sb.9*). Les dates calendaires pouvant bien sûr varier selon le climat de l'année et la localisation de l'expérience, il est intéressant de relier l'accumulation d'amidon à un stade phénologique. Kozina (1986) note que sur les conifères l'accumulation d'amidon n'a lieu que lorsque la formation du bois est terminée. Sur les feuillus, la reconstitution des réserves semble plus précoce. Stassen *et al* (1981) observent sur pêcher une reconstitution des réserves en amidon six semaines après

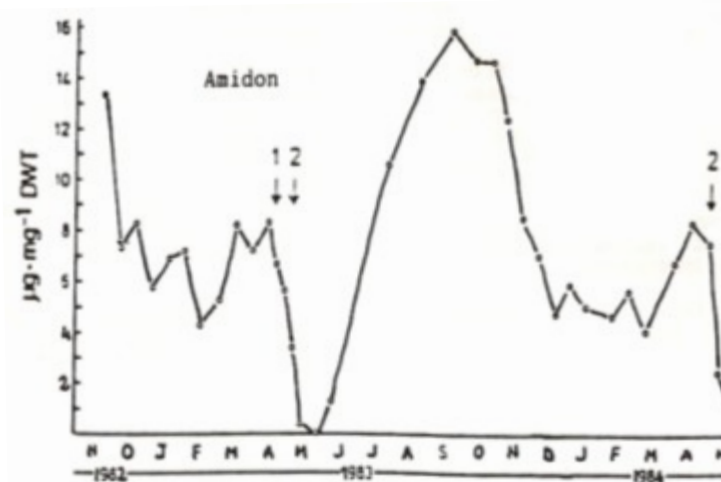


Figure sb.9 : Evolution saisonnière de la teneur en amidon du bois de la branche âgée de 2 à 4 ans de *Populus canadensis* 'robusta' (Sauter, 1988).

(1) Débourrement, (2) Démarrage des bourgeons végétatifs, les feuilles sont encore petites (environ 1 cm).

débourrement, soit avant même que l'élongation des tiges ne soit terminée. Toutefois, contrairement à Hartig (1858), ces auteurs n'observent pas de différences dans les dates de reconstitution des réserves entre la partie aérienne et la partie souterraine. Keller et Loescher (1989) observent une accumulation des réserves plus précoce dans le tronc que dans les racines. Wargo (1979) remarque que l'accumulation d'amidon dans les racines d'érable commence peu après le débourrement. Roper *et al* (1988) remarquent sur griottier (*Prunus cerasus*) que l'accumulation d'amidon commence peu après le débourrement mais est interrompue lors de la maturation des fruits. En fin de saison, de nombreuses études sur pommier utilisant le marquage radioactif au ^{14}C ont montré que l'accumulation se faisait préférentiellement dans les racines (Hansen, 1967b ; Quinlan, 1969 ; Kandiah, 1979). Ceci est, peut être, à mettre en relation avec la capacité des racines à maintenir une certaine activité en automne, la température du sol étant relativement plus élevée que celle de l'air à cette période. De plus, la mobilisation printanière se produit d'abord dans les organes de la partie aérienne et les racines fines, c'est-à-dire au voisinage des zones de croissance, alors que la croissance proprement dite est encore très faible quantitativement. Mais à l'échelle de la plante entière, l'essentiel de la mobilisation se produit plus tard, au niveau des grosses racines, alors que la croissance est déjà bien engagée ; simultanément, les parties aériennes sont déjà en train de reconstituer leurs réserves alors même que la mobilisation souterraine se produit encore (figure sb.10) (Lacointe *et al*, 1993).

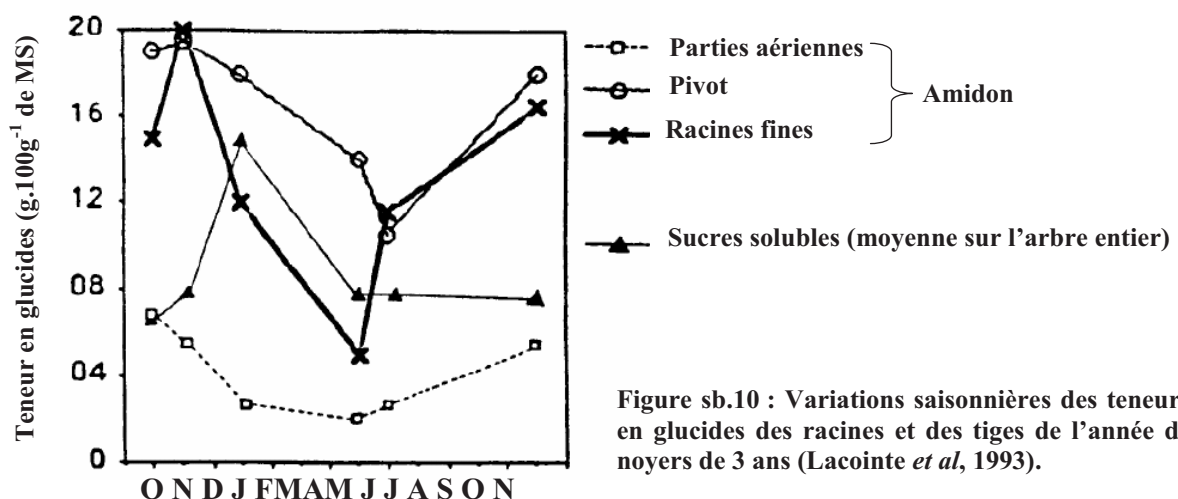


Figure sb.10 : Variations saisonnières des teneurs en glucides des racines et des tiges de l'année de noyers de 3 ans (Lacointe *et al*, 1993).

Chez *Quercus ilex*, une espèce méditerranéenne de chênes sempervirents, l'accumulation de l'amidon dans les rameaux de l'année peut se faire également durant l'hiver (Morin *et al*, 2007). Enfin, chez le hêtre et le chêne adultes, l'amidon est responsable des variations de

teneurs entre les niveaux (existence d'un gradient de teneur sur la longueur des différents organes étudiés (branches, tronc, racines)), entre les dates et entre les espèces, la position ou l'orientation de l'organe dans l'arbre ayant peu d'influence sur le gradient (Barbaroux, 2002). Un mois avant la chute des feuilles, une diminution des réserves en amidon dans les branches qui s'accompagne d'une augmentation très nette des réserves amylacées dans les grosses racines a été observée chez le hêtre. Un transfert des réserves des branches vers les racines s'opère donc chez le hêtre. Chez le chêne, ce transfert est moins marqué (Barbaroux, 2002).

1.3.3.2 Dynamique de remplissage du xylème à l'échelle tissulaire

Les travaux de Wargo (1979), sur les racines d'érable à sucre montrent que la reconstitution des réserves suit une chronologie précise selon le type et la localisation des cellules. Les réserves amylacées sont à leur minimum en mai peu après débourrement. On retrouve de l'amidon près du xylème primaire dans les rayons ligneux, puis dans les fibres du xylème. A la mi-juillet, la plupart des cellules, y compris celles du xylème externe, possèdent des dépôts importants d'amidon. Après cette accumulation, un nouveau cerne du xylème se forme en juillet-août. A la fin du mois d'août, l'amidon commence à se déposer dans ce nouveau cerne, en commençant par les zones les plus proches du cerne annuel précédent. Les dépôts amylofères se constituent dans le parenchyme des rayons puis dans les fibres ligneuses contiguës aux vaisseaux et ensuite dans les fibres ligneuses plus éloignées des vaisseaux. En novembre, le cerne annuel externe ne se distingue plus du bois plus âgé.

1.3.4 Phénomènes d'échanges latéraux : influx et efflux de sucres

En absence de feuilles photosynthétiques, les sucres contenus dans la sève xylémienne peuvent avoir deux origines. Ils peuvent provenir de la mobilisation des réserves contenues dans les racines et/ou d'une mobilisation des réserves locales (Ferguson *et al*, 1981). L'hiver, les mouvements ascendants d'eau, dus à la poussée racinaire, sont très réduits et les sucres présents dans la sève sont donc très certainement le résultat d'échanges latéraux entre les vaisseaux et le parenchyme xylémien (Ferguson *et al*, 1981). Le reste de l'année, au contraire, les sucres proviendraient des échanges latéraux entre les tissus conducteurs du phloème et du xylème et probablement des apports racinaires.

Les mouvements de nutriments entre le parenchyme xylémien et la lumière des vaisseaux se font par l'intermédiaire des CAVs (§1.2.1.2.). Ces mouvements latéraux sont de deux sortes :

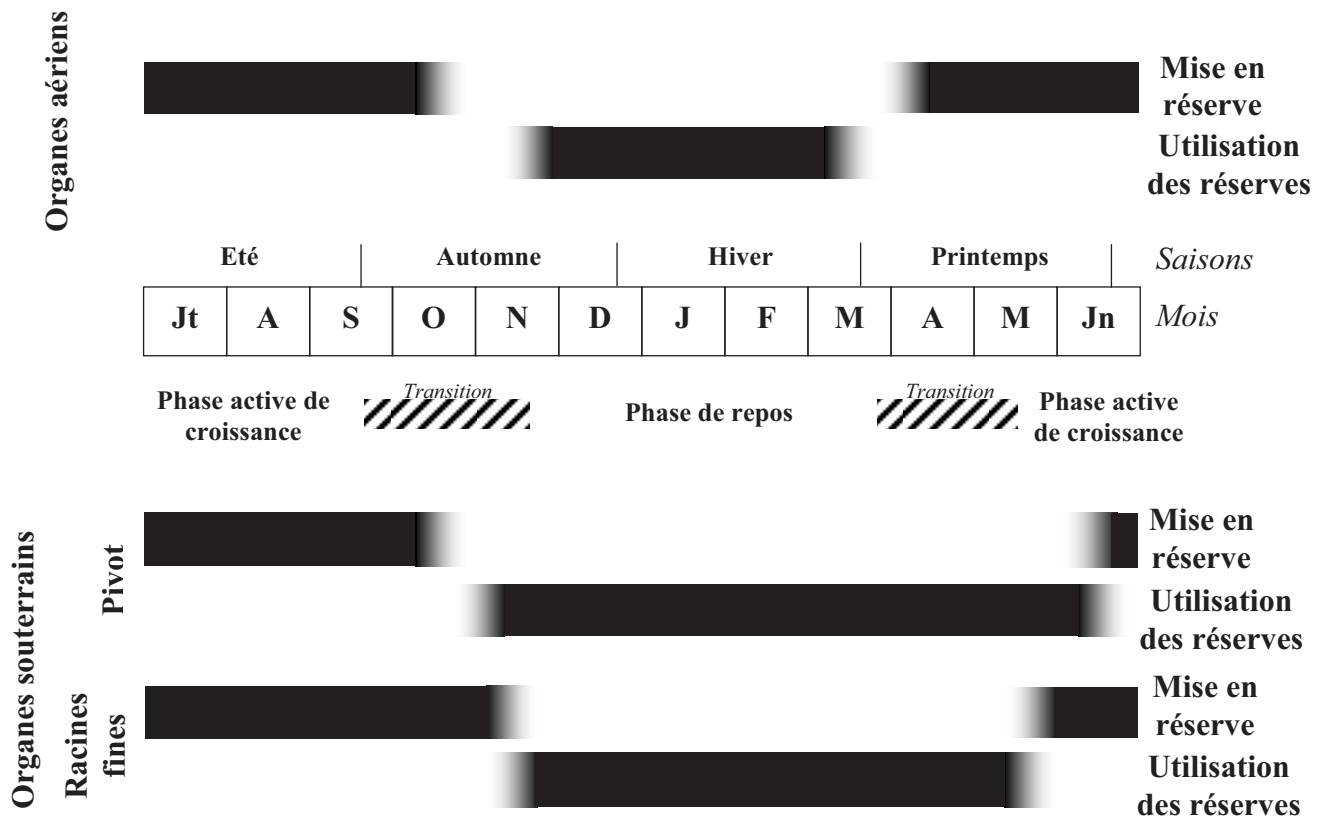
- Les mouvements dits d'efflux pour lesquels les sucres vont des parenchymes vers la lumière des vaisseaux en traversant la membrane plasmique des CAVs (Sauter *et al*, 1973 ; Fromard, 1990 ; Babin, 1995 ; Améglio *et al*, 1992, 2001, 2004 ; Pellicer, 1994).
- Les mouvements dits d'influx pour lesquels les sucres sont absorbés par les CAVs. Les sucres vont donc des vaisseaux vers les parenchymes (Sauter, 1981 ; Decourteix *et al*, 2006).

L'efflux semble être un processus relativement sélectif (Sauter et Ambrosius, 1986). En effet, Sauter et Ambrosius (1986) ont montré chez *Betula pendula* que quelle que soit la période de l'année, les sucres les plus représentés dans la sève xylémienne sont le saccharose, le glucose et le fructose. Ils constituent à eux trois 97 à 98% des sucres totaux de la sève alors que, dans les cellules du parenchyme xylémien, des quantités non négligeables d'autres sucres sont détectées. L'efflux de saccharose ferait ensuite intervenir, au moins en partie, une diffusion facilitée réalisée grâce à une protéine sensible à un effecteur des groupements imidazoles des histidines (DEPC) (Fromard, 1990 ; Babin, 1995 ; Améglio *et al*, 2004). Enfin, les efflux de sucres varient avec les saisons (*Salix*, Sauter, 1982 ; *Populus*, Sauter, 1988b).

L'influx représente l'absorption des sucres par les CAVs. Comme l'efflux, l'influx, notamment l'influx de saccharose, montre des variations saisonnières (*Salix*, Sauter, 1983 ; *Juglans*, Valentin, 1997 ; Valentin *et al*, 2001). De plus, selon la date de l'expérimentation, l'efficacité de l'influx est influencée par les températures (Valentin, 1997).

Des travaux réalisés sur l'influx de saccharose de rameaux de noyer montrent qu'une part au moins de l'absorption du saccharose par les CAVs est un processus actif (Alves *et al*, 2001, 2004, 2007), que la part active de cette absorption augmente significativement en hiver après que le noyer soit soumis à des gelées et qu'il y aurait une corrélation entre la capacité d'absorption du saccharose et l'abondance de *JrSUT1* (*Juglans regia* SUcrose Transporter 1) dans les tissus du xylème (Decourteix *et al*, 2006). Une étude récente montre, de plus, une régulation spatio-temporelle de ces transporteurs en relation avec la physiologie de l'arbre : il existe une relation positive entre la capacité de débourrement des bourgeons végétatifs de noyer, la teneur en saccharose dans la sève xylémienne, les capacités d'absorption active par les CAVs et l'abondance, dans le parenchyme xylémien, de transporteurs de saccharose (JrSUTs) (Decourteix *et al*, 2008).

Schéma récapitulatif de la mise en réserve et de l'utilisation des réserves amylacées
des différents organes d'un jeune noyer



2 La résistance au gel des arbres

Des nombreux facteurs (température, pluviosité, salinité...) perturbant la productivité dans l'agriculture et limitant l'extension de celles-ci vers certaines régions défavorisées, les basses températures négatives comptent parmi les paramètres les plus importants. Pour remédier à cette contrainte thermique, les plantes ont développé des mécanismes physiologiques leur permettant de résister au froid et de « s'endurcir » aux basses températures. Ainsi, les arbres et arbustes des régions tempérées présentent des variations annuelles de la résistance au gel synchronisées avec le rythme des saisons : en période estivale, la résistance au gel reste faible. A l'approche de l'hiver, certains végétaux s'endurcissent plus ou moins à supporter des températures basses. Ainsi, avant de nous intéresser aux différents mécanismes de résistance au gel des végétaux ligneux, nous allons rapidement nous intéresser à la notion de température d'un organe et aux risques de rencontrer des situations gélives.

2.1 Quelques notions sur la température d'un organe et les risques de gel

2.1.1 Notion de température d'organe

Le bilan d'énergie d'un organe va déterminer sa température à un instant donné (Guyot, 1997). Ce bilan d'énergie est fonction de la quantité d'énergie reçue et perdue par cet organe. La température d'un organe sera donc le résultat de l'environnement microclimatique dans lequel il est plongé et de son état physiologique qui conditionne ses propriétés thermiques.

La somme algébrique de ces différents facteurs de gains et de pertes énergétiques représente le bilan énergétique de l'organe. Il est généralement positif durant la journée, il devient négatif durant la nuit, le rayonnement atmosphérique n'étant pas suffisant pour compenser les pertes d'énergie de surface de l'organe. Le solde positif ou négatif du bilan radiatif varie aussi selon les conditions atmosphériques. La présence de vapeur d'eau renforce le rayonnement atmosphérique (effet de serre) et limite les pertes énergétiques, notamment la nuit. Durant la journée, l'action positive de la vapeur d'eau (nuage ou brouillard) n'est pas perceptible car le couvert nuageux restreint le rayonnement solaire (Quénol, 2002), diminue l'intensité du solde positif (jour) ou négatif (nuit) du bilan radiatif, ce qui explique la faible amplitude thermique quotidienne en situation nuageuse. Inversement, par temps clair, l'apport énergétique diurne et les déperditions nocturnes (rayonnement émis dans les grandes

longueurs d'onde par la surface de l'organe) sont très importants, d'où une amplitude thermique très forte.

La part du rayonnement dans les transferts énergétiques entre un organe et l'air est essentielle mais elle ne rend pas compte de l'ensemble des mécanismes. Il faut également prendre en compte un ensemble de processus thermiques internes à l'organe :

- Liés à l'existence de gradients de température au sein de l'organe, ou lorsqu'un gradient de concentration existe pour une espèce chimique dans une même unité de volume (effet Dufour).
- Liés également aux puits et sources de chaleur, comme la chaleur latente de changement de phase qui correspond à la chaleur utilisée ou restituée lors des changements de phase solide/liquide/vapeur ou vapeur/liquide/solide respectivement et la chaleur d'absorption ou de désorption d'eau par la matière poreuse avec des apports ou des pertes ponctuelles de chaleur.
- Liés aussi, aux échanges de chaleur avec la sève circulante, venant du système racinaire et qui se distribue dans l'arbre en absorbant ou en fournissant de la chaleur localement à l'organe considéré.
- Liés enfin à la chaleur métabolique due à des réactions exothermiques en lien avec la physiologie des organes, comme la respiration par exemple.

La chaleur peut également se transmettre par conduction (pour les solides) et par convection (pour les fluides). Les échanges énergétiques par conduction concernent les transferts de chaleur entre la surface et l'intérieur de l'organe. Ceux-ci varient en fonction de la composition physique, de la nature de la couche superficielle (ex. épaisseur de l'écorce, présence de liège, ...) et du taux d'humidité de l'organe. Ceux par convection se produisent soit par des différences de températures (flux de chaleur sensible dû à la différence de température entre l'organe et l'air ambiant : convection libre), soit par le vent (convection forcée, liée au déplacement des masses d'air encore appelée advection). Les échanges énergétiques par convection sont donc importants si le vent et l'amplitude thermique organe/air sont forts. Les changements de phase de l'eau ou de la vapeur d'eau constituent un mécanisme également important de transfert d'énergie (flux de chaleur latente) qui correspond soit à un refroidissement en surface par transpiration de l'organe lors du changement de phase de l'eau de l'état liquide à un état gazeux, soit au réchauffement des couches externes induit par la chaleur restituée lors du phénomène de rosée, ou lors d'un éventuel gel de l'eau à la surface.

L'ensemble des mécanismes de transferts d'énergie conditionne le comportement des températures en surface de l'organe au niveau de la couche limite.

La température en un lieu ne dépend pas seulement des différents mécanismes de transferts d'énergie que nous venons d'évoquer au niveau d'un organe (rayonnement, advection, convection, conduction, évaporation et condensation), mais également de facteurs géographiques locaux (altitude, exposition, effet d'abri, couche superficielle du sol, ...). Ces différents facteurs jouent un rôle important sur le refroidissement nocturne et sur la répartition spatiale des températures.

2.1.2 Risques des températures gélives

On distinguera les risques de type radiatif dû au refroidissement nocturne (gelée blanche), des risques de gelée par advection (liée au vent appelée encore gelée noire).

Le premier type (gelée radiative) s'opère par déficit du rayonnement radiatif (rayonnement atmosphérique < rayonnement terrestre de grandes longueurs d'onde). Il se produit au cours de situations atmosphériques calmes de type anticyclonique avec un ciel clair et une faible vitesse du vent ($< 2 \text{ m.s}^{-1}$). Ses risques diffèrent selon les caractéristiques de l'environnement (sol, végétal, obstacles artificiels, ...) et du relief (pente, replat, cuvette, ...) (Quénol, 2002). Ils sont atténués par :

- la présence de brouillard ou d'un couvert nuageux qui limite les déperditions calorifiques rayonnées par le sol et les organes, ainsi que le brassage des couches d'air qui modèrent le refroidissement nocturne par rayonnement (Guyot, 1997).
- les caractéristiques du sol dont dépendent les capacités à accumuler ou à restituer de l'énergie par rayonnement.
- les conditions d'écoulement d'air. L'air froid, plus dense et plus lourd que l'air ambiant, reste au niveau du sol par subsidence. Il descend les pentes. La vitesse de l'écoulement dépend principalement de la morphologie du relief. Le moindre obstacle à l'écoulement (cuvette, replat ou haie brise-vent) ralentit ou bloque les nappes d'air froid (Geiger, 1980 ; Choissnel *et al*, 1993).

L'accumulation d'air froid au niveau du sol peut, dans certaines situations, induire une inversion thermique variant de quelques dizaines de centimètres à plusieurs centaines de mètres de haut. Par subsidence, les couches d'air sus-jacentes à la surface sont les plus froides. La température augmente en fonction de l'altitude jusqu'à un niveau appelé « plafond d'inversion », ensuite elle recommence à baisser avec l'altitude (environ $-0,6^{\circ}\text{C}$ par 100m). L'amplitude de l'inversion thermique est maximale lorsque le vent est nul et le ciel clair. Dès

le lever du soleil, l'inversion thermique se désagrège, la surface du sol, plus conductrice que l'air, se réchauffant plus rapidement sous l'action du rayonnement solaire (Fallot, 1992).

Le second type (la gelée d'advection) est dû à l'arrivée d'une masse d'air froid différente de celle qui est en place. Les conditions atmosphériques qui le caractérisent sont une vitesse du vent supérieure à 3 m.s^{-1} , une humidité relative faible et des températures minimales très basses, notamment en hiver avec l'arrivée d'une masse d'air polaire (gelées noires). Contrairement au refroidissement radiatif où la grande variabilité spatiale des températures minimales est liée à la morphologie, à l'état et aux aspérités de la surface, la variabilité thermique en situation advective est faible.

2.2 Les effets du gel sur les arbres

Les dégâts provoqués par le gel peuvent apparaître dans des circonstances variées. Ainsi, des gelées précoces sont susceptibles de détruire des plantes insuffisamment endurcies. En période hivernale, les effets du gel dépendent de son intensité plus que de sa durée. Il peut agir directement sur le végétal et produire des nécroses des bourgeons, le noircissement du xylème, l'éclatement des troncs et la mort des feuilles pour les arbres à feuilles persistantes. Enfin, des gelées de printemps, même peu importantes, sont susceptibles de détruire des bourgeons végétatifs ou floraux au début de la croissance.

2.2.1 Les dégâts du gel visibles sur les organes

Les dégâts provoqués par le gel sont très variables. Sur les arbres à feuilles persistantes, tels que les pins, les aiguilles peuvent se décolorer et brunir (*figure sb.11*).

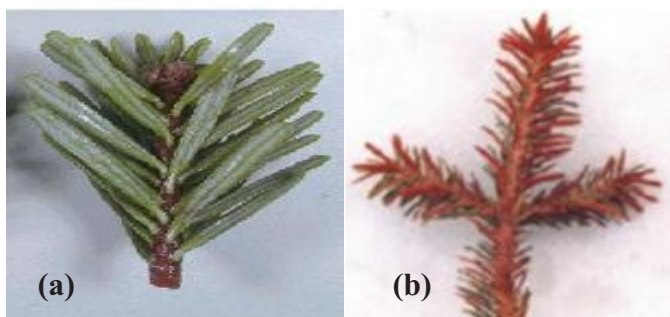


Figure sb.11 : (a) Aiguilles d'*Abies mariesii* n'ayant pas subi l'effet du gel (recouvertes par la neige). (b) Aiguilles ayant subi l'effet du gel (Yamazaki *et al*, 2003).

En hiver, lorsque l'eau du sol ou des vaisseaux conducteurs viennent à geler, l'équilibre hydrique de la plante est perturbé. En effet, la transpiration des arbres en hiver n'est pas

entièrement arrêtée. Les arbres ressentent alors un stress hydrique. Dans la littérature, ce phénomène est appelé déshydratation hivernale (*winter desiccation*) ou sécheresse liée au gel (*frost drought*) (figure sb.12). Ce type de stress provoque les mêmes symptômes qu'un stress

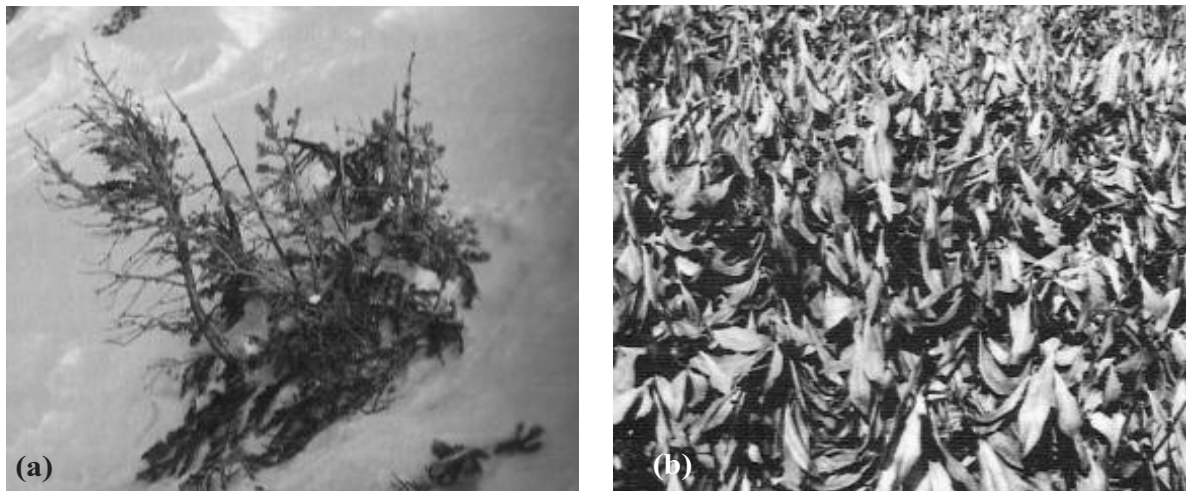


Figure sb.12 : Symptôme de déshydratation hivernale : (a) sur *Picea abies* chétif (photo de W. Larcher, extrait de Sakai et Larcher, 1987) et (b) sur une plantation de thé (extrait de Sakai et Larcher, 1987).

hydrique estival (perte des feuilles, chute brutale du potentiel hydrique, embolie). L'intensité de la déshydratation peut être amplifiée par un vent sec (Sakai et Larcher, 1987). La glace peut également se former autour des organes aériens des arbres et provoquer la rupture des branches (cas des tempêtes de verglas : ex. La crise du verglas au Québec de 1998) ou des conditions d'hypoxie au niveau aérien ou racinaire. Le tronc des arbres peut aussi se fendre sous l'action du gel, on parle alors de 'gélivure des troncs'. Des facteurs prédisposant peuvent intervenir : des facteurs stationnels (le climat, qualité du sol, la topographie), des facteurs individuels (l'espèce, l'âge, ...) et la structure des peuplements forestiers (Cinotti, 1989). Enfin, il existe des nécroses au niveau du cambium ou encore appelée 'échaudure' (Dellus *et al*, 2003). Elles sont provoquées par un gel précoce et forment un bourrelet cicatriciel.

2.2.2 L'embolie hivernale

Sous sa forme liquide, la sève xylémienne contient des gaz dissous qui, sous l'effet de la prise en glace de la sève, sont expulsés de la phase solide, se concentrent, et forme des bulles d'air en dehors de la phase solide. Au moment du dégel, ces bulles d'air peuvent soit se dissoudre à nouveau dans la sève, soit grossir et obstruer totalement les vaisseaux du xylème. On parle alors d'embolie hivernale (Cochard et Tyree, 1990 ; Améglio *et al*, 1995). Les espèces dont le diamètre des vaisseaux est important sont beaucoup plus sujettes à l'embolie hivernale. Ceci a été confirmé par de nombreuses études (Ewers, 1985 ; Sperry et Sullivan,

1992 ; Hacke et Sauter, 1996). Ainsi, grâce à leurs trachéides de faible diamètre (10-50µm) (Hopkins, 2003), les conifères subissent très peu d'embolie même après plusieurs épisodes de gel. Il faut attendre plusieurs dizaines de cycles pour voir le taux d'embolie augmenter significativement, en particulier pour des conifères en limites altitudinales de leurs aires de répartition. Par ailleurs, cette augmentation de l'embolie dans ces conditions est également liée à l'état hydrique du végétal (Mayr *et al*, 2007). Chez les espèces à zones poreuses comme le chêne (Cochard et Tyree, 1990 ; vaisseaux à très large diamètre : 300-500 µm, *Quercus ssp*, Hopkins, 2003) et le frêne (Cochard *et al*, 1997), un seul évènement de gel-dégel peut conduire à l'embolisation de la plupart des vaisseaux. Pour les espèces à pores diffus, deux scénarii sont retrouvés en fonction de l'espèce considérée. Le nombre de vaisseaux embolisés peut soit augmenter fortement après un premier épisode de gel (vaisseaux à large diamètre : 60-160 µm : *Juglans regia*, Améglio *et al*, 2002) puis diminuer grâce à l'existence de pression positive dans les vaisseaux du xylème au cours de l'hiver, soit augmenter progressivement au cours de l'hiver pour atteindre un maximum à l'approche du débourrement (pas de pression positive durant l'hiver, vaisseaux à diamètre moyen : 25-60 µm, *Prunus persica*, Améglio *et al*, 2002).

La création d'embolie gazeuse dans les vaisseaux du xylème au cours de l'hiver dépend donc à la fois de la taille de ces vaisseaux et des conditions évaporatives au dégel (Améglio *et al*, 2002).

A la reprise de la croissance, l'approvisionnement en eau et en nutriments des bourgeons et du cambium repose en partie sur la sève xylémienne (Dambrine *et al*, 1995 ; Tyree et Cochard, 1996 ; Decourteix *et al*, 2008). Il en résulte la nécessité pour les arbres d'avoir des vaisseaux du xylème capables de transporter ces éléments. Suivant les espèces, les stratégies de restauration de la conductivité hydraulique diffèrent. Certaines espèces démarrent leur croissance cambiale avant la reprise de la croissance des bourgeons végétatifs. Ceci permet la production de nouveaux vaisseaux fonctionnels et utilisables pour la reprise de la croissance (Tyree et Cochard, 1996 ; Cochard *et al*, 2001). Pour de nombreuses autres espèces, le débourrement des bourgeons commence avant la reprise de l'activité cambiale. Ces espèces sont alors obligées de rétablir leur conductivité hydraulique en éliminant les bulles d'air. On parle de réparation de l'embolie hivernale. Cette réparation est corrélée avec l'apparition de pressions positives dans le xylème originaires des racines ou des branches.

Chez certaines espèces d'arbres, une conductivité hydraulique optimale serait restaurée grâce aux pressions positives d'origine racinaire observées au printemps (Sperry *et al*, 1987 ; Borghetti *et al*, 1993 ; Ewers *et al*, 2001 ; Strati *et al*, 2003). Cette mise sous

pression de la sève est appelée pression racinaire. Ewers *et al* (2001) ont montré, chez le noyer, que la pression racinaire est liée à l'absorption minérale et dépend de la température du sol. De plus, cette pression racinaire est corrélée positivement avec les températures du sol. Dans les branches de noyer, en l'hiver, les pressions positives sont corrélées négativement avec les températures extérieures (Améglio et Cruiziat, 1992 ; Améglio *et al*, 2001d) et sont associées à une forte teneur en sucres de la sève (Ewers *et al*, 2001). Chez le hêtre, on retrouve les deux mécanismes précédemment mentionnés : l'utilisation de nouveaux vaisseaux mis en place suite à la reprise de l'activité cambiale et la pression racinaire (Cochard *et al*, 2001).

Pour le noyer (Améglio *et al*, 2002) ou l'érable (O'Malley et Milburn, 1983 ; Tyree, 1983), la réparation de l'embolie peut aussi avoir lieu au cours de l'hiver puisqu'on observe des variations du taux d'embolie au cours de cette période. Chez l'érable, il a été très clairement démontré que les pressions positives hivernales proviennent directement de la branche et non des racines. En effet, en hiver, l'exsudation de sève est négligeable pour les souches racinaires alors qu'elle est importante pour les branches coupées (Marvin et Greene, 1951). Chez le noyer, Améglio et Cruiziat (1992) et Améglio *et al* (1995) ont montré qu'en hiver la sève xylémienne peut être sous tension ou sous pression et que l'alternance entre ces deux états est dépendante des températures de l'air. Pour des températures supérieures à +5°C, la sève est sous tension. Lorsque les températures sont inférieures à +5°C, et que la sève est toujours liquide (températures supérieures à -5°C), la sève est sous pression. Expérimentalement, un écoulement de sève se produit à l'extrémité coupée. On dit que ces arbres « pleurent à la taille ». La mise sous pression hivernale de la sève xylémienne a été largement étudiée chez de nombreuses espèces et notamment chez l'érable (O'Malley et Milburn, 1983 ; Tyree, 1983 ; Johnson *et al*, 1987). Les mécanismes proposés pour expliquer cette mise sous pression sont classiquement attribués, soit à des phénomènes purement physiques, soit purement physiologiques. Selon le « modèle physique », les pressions hivernales sont strictement le résultat d'alternances gel/dégel (O'Malley et Milburn, 1983 ; Tyree, 1983). Selon le « modèle physiologique », l'activité des cellules vivantes du xylème serait nécessaire pour permettre une augmentation de nature osmotique de la pression (Marvin, 1958, cité par Cruiziat *et al*, 2002). Aussi bien chez l'érable que chez le noyer, la pression est corrélée négativement aux faibles températures et positivement à une forte teneur en sucres solubles (glucose, fructose, saccharose) de la sève xylémienne (Améglio *et al*, 2001c). Donc, chez le noyer, les températures gélives de l'hiver pourraient expliquer les valeurs élevées de l'osmolarité de la sève xylémienne. Par ailleurs, l'accumulation des sucres

dans les vaisseaux du xylème est facilitée par une protéine sensible au DEPC (diethylpyrocarbonate) (Améglio *et al*, 2004). Ces sucres solubles proviennent de l'hydrolyse des réserves amylacées favorisée par les mêmes conditions que celles de mise sous pression de la sève (températures comprises entre -5°C et +5°C). Dans ce contexte, le déversement des sucres dans les vaisseaux du xylème générerait un flux d'eau des tissus voisins vers les vaisseaux du xylème, ce qui permettrait la mise sous pression de la sève (Cruziat *et al*, 2003). La pression de branche durant l'hiver est donc clairement sous l'influence des températures mais aussi des réserves carbonées. Ceci a été mis en évidence sur des arbres au statut carboné altéré par des défoliations successives. Les arbres défoliés présentent une diminution de leurs réserves carbonées qui s'accompagne de pressions osmotiques plus faibles que celles observées chez des arbres non-défoliés au statut carboné normal (Améglio *et al*, 2001c).

2.2.3 Les dégâts cellulaires

Les effets de la congélation extracellulaire peuvent résulter d'une augmentation importante de la teneur en solutés du milieu cellulaire, à la suite d'une diminution de la teneur en eau des cellules. En effet, le volume de la cellule ne peut descendre en dessous d'une valeur critique. Par ailleurs, au cours du réchauffement, le protoplasme peut rester coagulé à l'intérieur de la cellule si celle-ci est incapable de réabsorber l'eau après la fusion de la glace. Cette situation conduit à la mort de la cellule (Dereuddre et Gazeau, 1992).

La lyse cellulaire est caractérisée par l'éclatement ou la désorganisation des membranes au moment du réchauffement. Elle a d'abord été observée dans le parenchyme cortical d'espèces ligneuses (Scarth et Levitt, 1937). Au cours du réchauffement, la lyse cellulaire s'effectue avant que le protoplasme n'ait retrouvé son volume initial. Elle dépendrait en fait de l'aptitude de la cellule à résister à des variations de volume et donc sa capacité à modifier la surface de la membrane plasmique (Dereuddre et Gazeau, 1992). Enfin, par actions mécaniques, les cristaux de glace présents dans le milieu extracellulaire peuvent créer des déformations importantes de la membrane plasmique et de la paroi. Ces déformations disparaissent progressivement au cours du réchauffement (Dereuddre et Gazeau, 1992), même si on connaît peu de chose sur les dégâts cellulaires provoqués par la glace du milieu extracellulaire (Samygin, 1994).

Le gel peut induire sur les plantes diverses blessures pouvant toucher toutes les parties de la plante. La tolérance au gel passe par la formation de la glace dans le milieu extracellulaire. La prise en glace du milieu intracellulaire est, dans tous les cas, fatale. La mise

en place de l'acclimatation au gel implique une séquence de processus qui sont interdépendants, chacun préparant la voie pour le suivant.

2.3 Les différents mécanismes de résistance au gel des arbres

Pour se protéger des basses températures, les plantes ont développé deux principaux moyens de lutte : l'absence de cristallisation et la tolérance à la formation de la glace. Par le premier, la plante évite la formation de la glace interne. La tolérance à la formation de la glace est le mode de résistance au gel le plus répandu chez les végétaux. Il nécessite une adaptation particulière qui se développe uniquement pendant la période hivernale.

2.3.1 Absence de cristallisation

L'évitement de la cristallisation est un des mécanismes qui permet aux végétaux de résister aux basses températures. L'absence de cristallisation se réalise principalement grâce au phénomène de surfusion. La surfusion (*supercooling*) est définie comme le refroidissement d'un liquide en dessous de sa température de cristallisation. Toutefois, la surfusion est un état d'équilibre instable qui peut cesser à tout moment : cet état est d'autant plus fragile que l'écart entre la température de cristallisation (ex. abaissement du point de congélation liés aux solutés) et celles des cellules est important. Lorsque le phénomène de surfusion est rompu, l'eau prend en glace et provoque un dégagement de chaleur latente (figure sb.13).

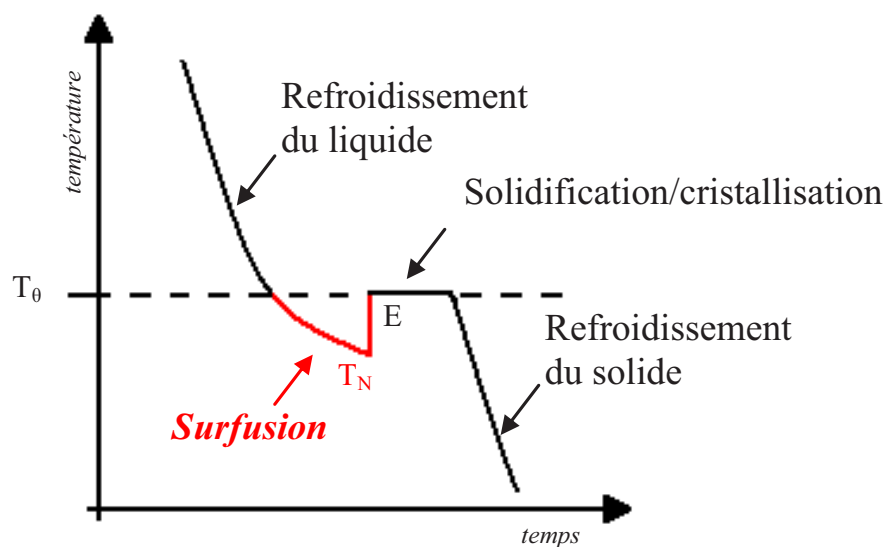


Figure sb.13 : Courbe de cristallisation présentant une surfusion (T_0 : Température de cristallisation ; T_N : Température de nucléation ; E : Exotherme).

Cette remontée rapide de la température est appelée exotherme. Si la température de cristallisation est une constante physique, la température de nucléation varie d'une expérience à l'autre pour un matériel donné et dans des conditions expérimentales identiques. Chez les

végétaux, on peut définir deux niveaux de surfusion : une surfusion partielle (*shallow supercooling*) et une surfusion profonde (*deep supercooling*).

La surfusion partielle ne dépasse pas généralement la température de -10°C . Elle a été observée dans le cadre d'expériences sur le parenchyme xylémien d'arbres originaires de zones tropicales et subtropicales, tels que *Ficus elastica* L., *F. microcarpa* L., *Mangifera indica* L., *Hibiscus Rosa-sinensis* L. and *Schefflera arboricola* L. Elle correspond à un état liquide de l'eau jusqu'à la température où se forme le premier cristal de glace soit en intracellulaire (cas des arbres tropicaux ou des arbres tempérés non endurcis), soit en extracellulaire, en particulier si la baisse de la température se produit lentement. Ainsi, le premier exotherme qui est observé traduit la fin de cet état (*shallow supercooling*), mais n'indique nullement si la cellule est vivante ou non. Il ne préjuge pas de la localisation du cristal de glace formé.

La surfusion profonde se produit généralement pour des températures très basses, voisines de -40°C . Elle ne concerne que de faibles volumes d'eau et traduit le plus souvent une prise en glace de l'eau intracellulaire. En effet, dans un milieu parfaitement stérile, la température de nucléation homogène de l'eau pure approcherait de -38°C . L'augmentation de la concentration en solutés à l'intérieur de la cellule favoriserait ainsi une prise en glace extracellulaire (premier exotherme : *shallow supercooling*) et protégerait alors la congélation de l'eau de la cellule vers le cristal de glace en formation à l'extérieur de la cellule. Dans ces conditions, la cellule serait protégée (*deep supercooling*) jusqu'à l'apparition du second exotherme (*figure sb.14*).

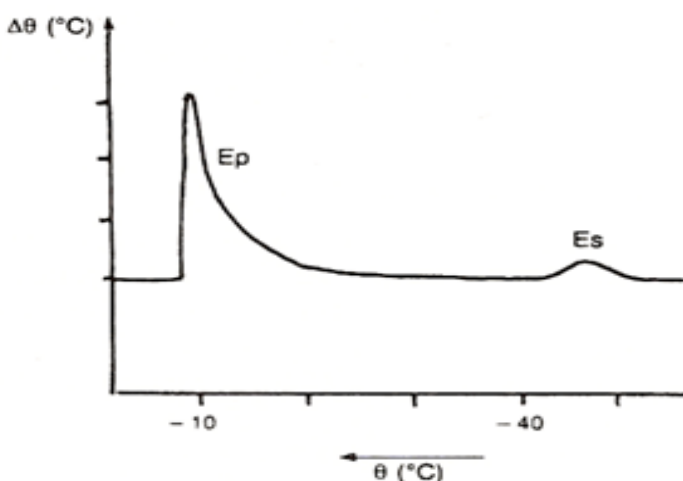


Figure sb.14 : Courbe de refroidissement de fragment de tige de *Betula alleghanensis* obtenu par microcalorimétrie différentielle et présentant les deux types d'exotherme.

Ep : exotherme primaire ; Es : exotherme secondaire ; θ : température ; $\Delta\theta$: écart de température entre l'échantillon à analyser et la référence (un morceau de tige déshydraté) (extrait de Dereuddre et Gazeau, 1992).

Les espèces d'arbres capables de réaliser une surfusion profonde ont la possibilité de vivre dans des environnements extrêmement froids. Par exemple, l'orme américain (*Ulmus americana* L.) et le frêne rouge (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.), chez lesquels la surfusion

profonde a été mise en évidence, sont tous originaires de provinces canadiennes dont les températures peuvent descendre en dessous de -45°C (Gusta *et al*, 1983). Durant la surfusion, les cellules ne sont pas sujettes à l'effet du gel. Les fonctions cellulaires sont maintenues mais à un niveau réduit.

La surfusion se produit en absence de particules de nucléation. Par exemple, chez les végétaux, certaines bactéries épiphytes comme *Pseudomonas syringae* et *Erwinia herbicola* sont des inducteurs très efficaces de la cristallisation à la surface des feuilles entre -2 et -5°C . La suppression de ces bactéries pourrait permettre d'augmenter la résistance des végétaux aux gelées faibles (Constantinidou *et al*, 1991 ; Dereuddre et Gazeau, 1992). Tous les facteurs favorisant la surfusion ne sont pas parfaitement connus. La viscosité, les propriétés de surface de la membrane et les macromolécules influencent le processus de surfusion. Cette viscosité augmente exponentiellement avec la diminution de la température (Cho *et al*, 1999). La diffusion et les mouvements des molécules d'eau sont alors ralentis. Les cristaux de glace ont plus de difficultés à se former. Une vitesse de refroidissement lente favorisera les phénomènes de surfusion (Guy, 1990). Enfin, l'insaturation des lipides membranaires permet un maintien de la fluidité membranaire à des températures plus basses (Pomeroy et Siminovitch, 1971 ; Guignard *et al*, 1985).

2.3.2 Tolérance à la formation de la glace

Pour de nombreuses espèces ligneuses résistantes au gel, la cristallisation extracellulaire est le mécanisme le plus efficace pour prévenir la cristallisation intracellulaire (Kuroda *et al*, 1997). Lorsque la température descend en dessous de 0°C , la cristallisation est généralement initiée dans les espaces extracellulaires, au niveau de la paroi car le milieu extracellulaire possède une température de cristallisation plus élevée que celle du milieu intracellulaire (Thomashow, 1999). Une différence de potentiel chimique se crée alors entre la glace du milieu externe et l'eau à l'état liquide du milieu interne, provoquant une sortie progressive d'eau et une diminution du volume cellulaire. Tant que le plasmalemmes et la paroi restent intacts, le milieu intracellulaire est isolé et ne gèle pas (Yamada *et al*, 2002). La cristallisation extracellulaire protège les cellules de la formation de la glace dans le milieu intracellulaire mais induit une déshydratation proportionnelle à l'intensité du gel (*figure sb.15*). La tolérance à la déshydratation induite est donc une des composantes de la résistance au gel (Levitt, 1980 ; Pearce, 2001). Les processus impliqués dans la réponse au gel sont présentés sur la *figure sb.16*.

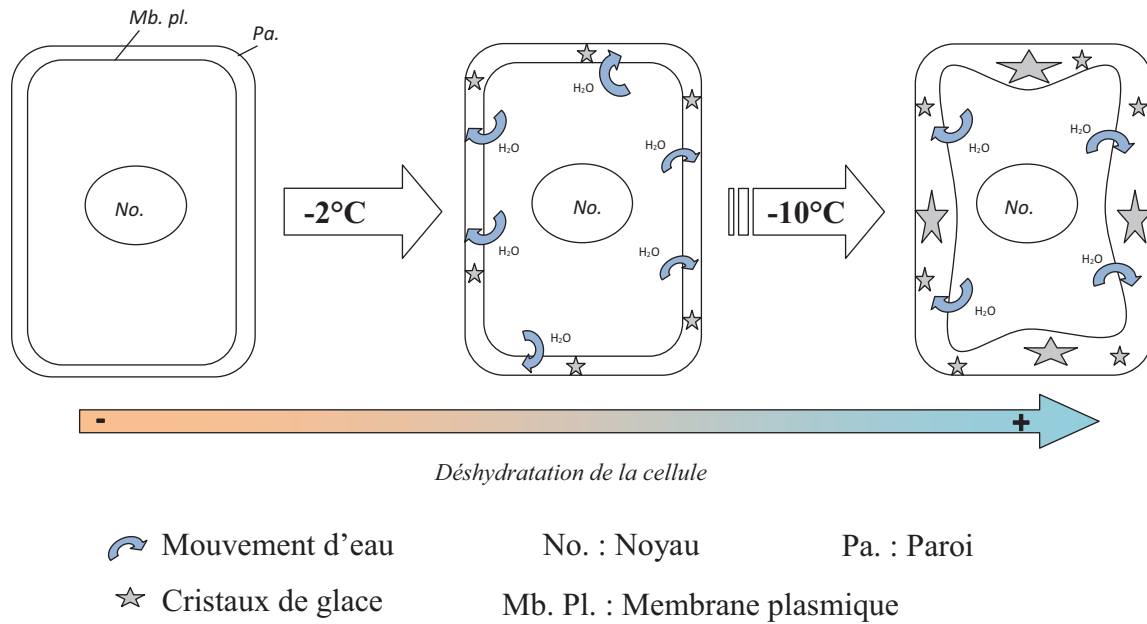


Figure sb.15 : Schéma simplifié de la formation des cristaux de glace dans le milieu extracellulaire d'une cellule résistante au gel au cours d'un refroidissement à -10°C.

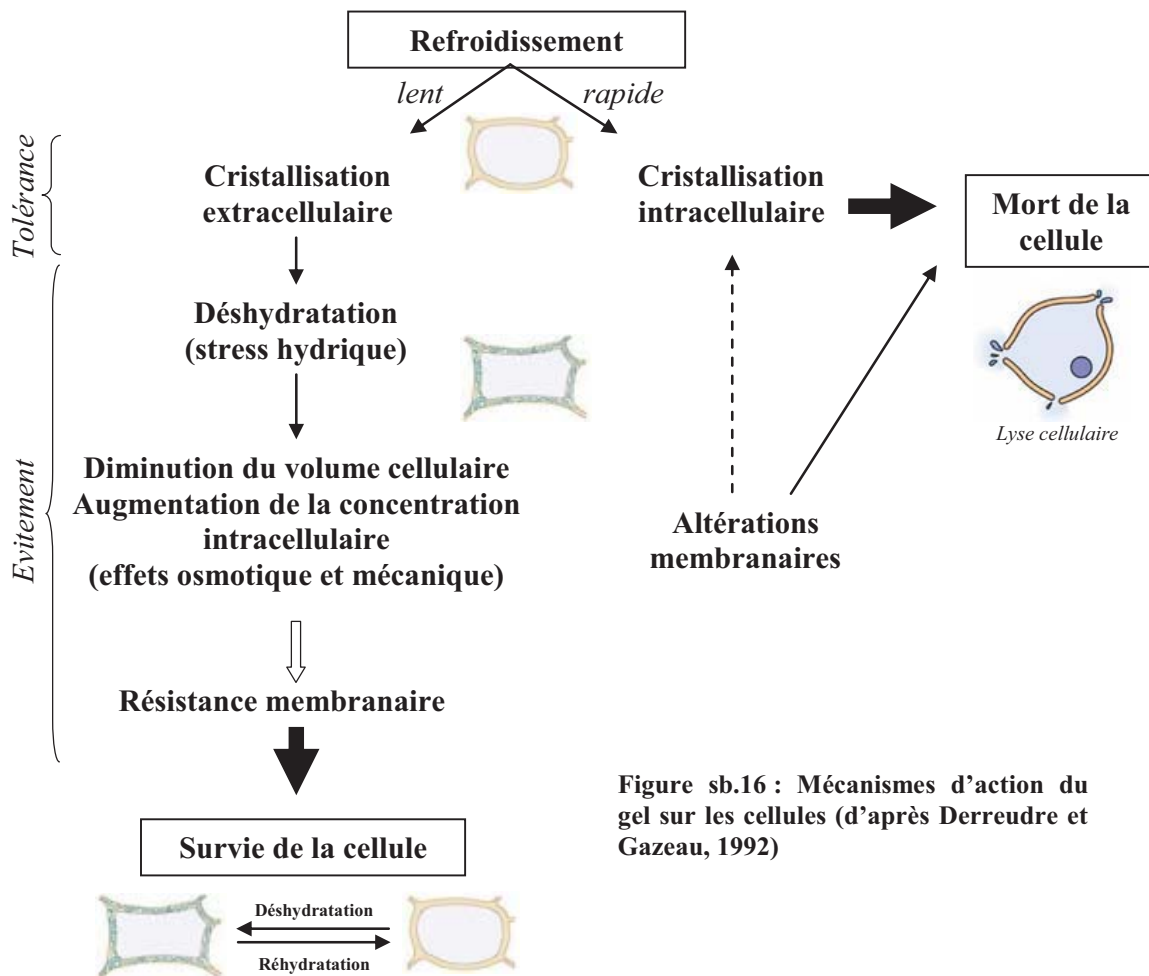


Figure sb.16 : Mécanismes d'action du gel sur les cellules (d'après Derreudre et Gazeau, 1992)

Les deux mécanismes de résistance au gel présents chez les plantes sont donc complémentaires. Lorsque la glace se forme dans le milieu extracellulaire, les processus d'évitement de la cristallisation (par déshydratation) se mettent en place dans le milieu intracellulaire. La cellule sera résistante au gel tant qu'elle sera capable de conserver un milieu intracellulaire exempt de glace et de résister aux différents stress (mécanique, hydrique et osmotique). La cristallisation intracellulaire est létale dans tous les cas.

2.4 L'acclimatation au gel

Le rythme de croissance des arbres des régions tempérées est synchronisé avec celui des saisons. Les facteurs externes (température et photopériode) sont déterminants dans cette activité cyclique, bien que les rythmes internes de croissance interviennent également.

2.4.1 Processus saisonnier

Au cours d'un cycle annuel, l'état physiologique d'un rameau passe par différents stades : le débourrement, l'état de dormance maximale et la levée de dormance. La résistance au gel d'un rameau suit une périodicité annuelle. Elle est maximale au milieu de l'hiver. Par exemple, chez le noyer *Juglans regia* cv. 'Franquette', elle atteint une valeur maximale en février et est minimale au moment du débourrement (Améglio *et al*, 2001e, 2006). La perte de résistance au gel résulte d'une reprise de la croissance. Les périodes les plus critiques pour les arbres sont donc à l'automne et au printemps. Pendant ces périodes, les plantes ont un niveau de résistance au gel faible, alors que les risques de gels restent importants.

2.4.1.1 La phase de croissance active

Lorsque les plantes des zones tempérées sont en croissance active, elles ne sont pas particulièrement endurcies (Fitter et Hay, 1987). Une étude menée par Christersson (1985) sur des pousses en croissance de *Salix sp*, de *Picea abies* et de *Betula verrucosa* montre que pour des températures situées entre -3°C et -5°C, le matériel végétal présentait des dommages. Les blessures étaient provoquées par la formation de cristaux de glace dans les tissus (Christersson, 1985 cité par Lennartsson, 2003). Une autre étude réalisée sur des plants de *Pinus radiata* a mis en évidence que le niveau de croissance relative des pousses était négativement corrélé à leur niveau de résistance au gel. Cette corrélation indique que la résistance au gel est étroitement liée au ralentissement de la croissance (Greer *et al*, 2000).

2.4.1.2 La phase d'endurcissement

L'augmentation de la tolérance au gel est le plus souvent appelé endurcissement au gel (*cold hardening*, *freeze hardening*) ou parfois acclimatation (*cold acclimation*). L'endurcissement au gel est un mécanisme d'acclimatation. Il est corrélé avec les états physiologiques de la plante (Dereuddre et Gazeau, 1992). Le profil type d'acclimatation au gel des arbres ligneux des zones tempérées est présenté sur la *figure sb.17*.

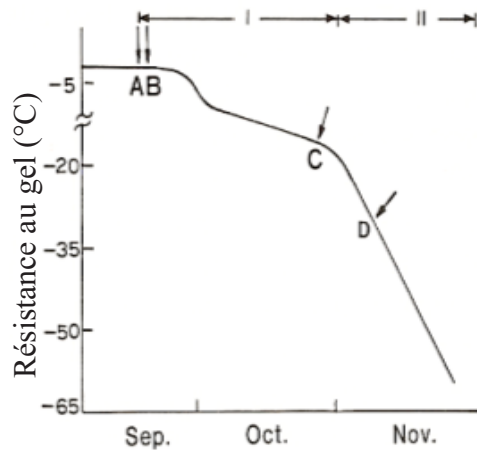


Figure sb.17 : Schématisation des étapes d'endurcissement des arbres ligneux (A) arrêt de la croissance active, (B) induction de la dormance des bourgeons, (C) défoliation, (D) levée de la dormance. I et II correspondent à la première et à la deuxième étape de l'endurcissement (extrait de Kruger et Trappe, 1967 ; Sakai et Larcher, 1987).

La première étape (I, *figure sb.17*) de l'endurcissement débute après que la croissance active ait cessée. Elle apparaît être induite par les jours courts et les températures automnales comprises entre 10°C et 20°C (Sakai et Larcher, 1987). Le seuil à partir duquel la température agit sur le processus de résistance au gel est assez difficile à déterminer car il varie avec les espèces et probablement les variétés (Levitt, 1980 ; Li *et al*, 2003a). Chez certaines espèces d'arbres (ex. chez *Cornus stolonifera* L.), un premier accroissement de la résistance au gel peut être perceptible, dans des conditions naturelles, en juillet et août (Dereuddre et Gazeau, 1992). De nombreuses substances organiques sont accumulées pendant cette période. Le processus de synthèse le plus importants durant cette phase est l'accumulation des réserves d'amidon. Cette mise en réserve est primordiale. L'énergie nécessaire aux changements structuraux et métaboliques de la deuxième étape d'endurcissement dépendra principalement de ces réserves. La seconde étape (II, *figure sb.17*) de l'acclimatation au gel est induite par les basses températures (inférieures à 5°C), et est amplifiée par des températures faiblement négatives (Irving et Lanphear, 1967 ; Howell et Weiser, 1970). A ce stade de l'endurcissement, des protéines et des lipides membranaires sont néosynthétisés. Des changements structuraux et biochimiques se produisent (*cf.* § 2.4.2, § 2.4.3 et § 2.4.4). L'ensemble de ces changements va permettre l'acquisition d'un niveau de résistance au gel maximal.

D'autres facteurs, qui sont considérés comme secondaires, peuvent influencer l'endurcissement : un stress hydrique favorise l'endurcissement (Chen *et al*, 1977) ; des déséquilibres dans la nutrition minérale (excès d'azote, manque de Mg^{2+} et de K^{+}) augmentent les risques de lésions causés par le gel de l'écorce interne de l'épicéa (*Picea abies*, Jonsson *et al*, 2004) ; la concentration en CO_2 élevée réduit l'endurcissement (Lutze *et al*, 1998). Pour ce dernier facteur, ces auteurs montrent sur *Eucalyptus pauciflora* que dans un milieu enrichi en CO_2 , les feuilles des plants présentent un point de cristallisation plus élevé. Pour expliquer ce fait, ils avancent l'hypothèse qu'une atmosphère enrichie en CO_2 favoriserait le développement des bactéries de nucléation dans la phyllosphère.

2.4.1.3 La phase de désendurcissement

La perte de résistance est nommée désendurcissement (*dehardening*). Cette phase est beaucoup moins connue que la phase d'endurcissement. Elle semble se produire plus rapidement (de la journée à la semaine) que pour la phase d'endurcissement (de la semaine au mois). Cette différence peut être due à des besoins énergétiques différents moins consommateur d'énergie. Il semble aussi qu'elle fasse intervenir des inhibitions d'expression de gènes et de biosynthèses plutôt que des activations (Sutton *et al*, 1992 ; Arora *et al*, 1992). Kalberer *et al* (2006) montrent que la désacclimatation au gel utilise les métabolites synthétisés ou accumulés pendant l'endurcissement. Ces mêmes auteurs définissent deux sortes de désendurcissement. Le premier est qualifié d'actif. Il se produit lorsque la température de l'air ambiant augmente. Sa progression est rapide. Il est associé aux changements structuraux et fonctionnels caractéristiques d'une reprise de la croissance. Bien qu'on rencontre le désendurcissement actif principalement au printemps, il se produit, parfois, lorsqu'une période de chaleur passagère survient en hiver. Le second est nommé désendurcissement passif. Il a lieu à la moitié de l'hiver lorsque la température augmente légèrement ($\sim 5^{\circ}C$ ou moins) sur une longue période. Pendant la phase de désendurcissement, il peut arriver qu'une réacclimatation se produise. Elle est plus rapide que l'endurcissement classique (Kalberer *et al*, 2007).

2.4.2 Modifications biochimiques

2.4.2.1 Modifications biochimiques liées à l'endurcissement

- *Accumulation de sucres solubles dans les tissus*

Le rôle des sucres dans la tolérance au gel est resté longtemps controversé. Il reste en effet à savoir si l'augmentation des teneurs en sucres est un effet ou une cause de la tolérance

au gel. Pour répondre à cette question, des travaux sur des cultures cellulaires existent. Leborgne *et al* (1995) ont montré une corrélation positive entre le contenu en sucres solubles de ces cellules et leur tolérance au froid après une acclimatation, ainsi qu'une amélioration de cette tolérance lors d'un ajout exogène de sucres solubles dans la culture. Ces observations suggèrent donc que l'accumulation de sucres solubles pendant la phase d'acclimatation au froid pourrait être un mécanisme efficace de résistance au gel. Cette hypothèse a été confirmée dans les travaux de Travert *et al* (1997) qui comparent la résistance au gel de cellules en culture issues de deux génotypes d'Eucalyptus hybrides : *Eucalyptus gunnii* × *Eucalyptus globulus* qui résiste bien au gel et *Eucalyptus cypellocarpa* × *Eucalyptus globulus* qui est sensible au gel. Ces auteurs montrent que les cellules du génotype résistant accumulent plus de sucres, notamment du saccharose et du fructose, que les cellules du génotype sensible. D'autre part, l'incubation des cellules d'Eucalyptus dans des solutions contenant des sucres entraîne une augmentation de la résistance au gel lorsque le contenu en sucres solubles des cellules augmente. Dans ces travaux, les auteurs concluent à un rôle cryoprotectant des sucres solubles plutôt qu'à un effet osmotique.

De nombreuses études (Siminovitch *et al*, 1953 ; Kramer et Kozlowski, 1979b ; Levitt, 1980 ; Tamassy et Zayan, 1982 ; Ashworth *et al*, 1993b ; Tinus *et al*, 2000 ; Améglio *et al*, 2004) réalisées sur les plantes ligneuses montrent clairement, qu'au cours de l'année, les sucres solubles augmentent à l'automne et qu'un accroissement de la quantité de sucres solubles accompagne l'acquisition de la résistance au gel. La concentration en sucres solubles atteint un maximum en hiver lorsque les températures sont les plus froides et diminue au printemps. Cette diminution coïncide avec la perte de résistance. La nature des sucres solubles qui apparaissent pendant l'endurcissement diffère selon les espèces. Chez le noyer, par exemple, ce sont le glucose, le fructose et le saccharose qui s'accumulent majoritairement (Améglio *et al*, 2004). Pour le pommier, c'est le sorbitol, stocké dans le xylème qui semble jouer un rôle important dans l'endurcissement au gel (Ichiki et Yamaya, 1982). Les sucres peuvent jouer divers rôles dans la protection de la cellule contre le gel (*cf.* § 1.5.4). En plus des effets protecteur et osmotique, les sucres jouent un rôle de substrat du métabolisme énergétique comme le montrent les travaux de Hatano (1978).

- *Augmentation des protéines non membranaires et des acides aminés*

De nombreuses protéines solubles sont synthétisées lors de l'acquisition de la résistance au gel. Il semble alors que la synthèse de protéines spécifiques soit nécessaire à l'endurcissement (Titov et Sherudilo, 1990). Ainsi, les déhydrines semblent particulièrement

être associées à la résistance au gel (Lim *et al*, 1999). Ces protéines du groupe 2 de la famille des LEA (Late Embryogenesis Abundant) sont souvent synthétisées en réponse à une déshydratation (sécheresse, froid) et interviendraient dans la stabilisation des membranes cellulaires (Thomashow, 1999).

Certains acides aminés s'accumulent également pendant l'endurcissement au gel. Les résultats de Sagisaka (1974), sur le peuplier, indiquent que l'arginine est l'acide aminé majoritaire dans les rameaux pendant la phase d'endurcissement. La proline a été associée à la résistance au gel des végétaux. C'est aussi un excellent marqueur pour d'autres stress que le gel, comme la sécheresse ou la salinité élevée des sols (Delauney et Verma, 1993 ; Xin et Browse, 1998 ; Gleeson *et al*, 2005). Enfin, chez *Picea mariana*, une accumulation de tryptophane coïncide avec l'augmentation de la résistance au gel (Odlum *et al*, 1993).

- *Modifications membranaires*

La composition des lipides membranaires a été reliée à la résistance au gel des plantes. En effet, elle permettrait d'accroître la fluidité des membranes en leur permettant de supporter des tensions élevées (Levitt, 1980 ; Yoshida, 1984). Chez les arbres, la quantité et la nature des lipides polaires varient pendant la période d'endurcissement. Par exemple, chez le mûrier (*Morus bombycis* Koidz. Cv. Goroji), la composition en phospholipide de la membrane plasmique varie au cours de l'endurcissement. Ainsi, la phosphatidylcholine diminue linéairement de septembre à décembre, parallèlement à l'augmentation de la phosphatidyléthanolamine (Yoshida, 1984). L'insaturation des acides gras (*figure sb18*) semble augmenter au cours de l'endurcissement (Yoshida, 1984) mais cela n'est pas généralisable à toutes les espèces d'arbres. Chez les arbres tels que le robinier, le développement de la résistance au gel se fait sans augmentation de la teneur en acide linoléique (C_{18:3}) ou en acide linoléique (C_{18:2}) par rapport aux lipides totaux ou aux phospholipides (Siminovitch *et al*, 1975). En revanche, chez des espèces comme le pêcher et le poirier, l'endurcissement s'accompagne d'une hausse de la teneur en acide linoléique (C_{18:3}) (Dereuddre et Gazeau, 1992). Chez *Arabidopsis thaliana*, certains mutants *fad* (*fatty acid desaturation*) possèdent une déficience dans la production d'acides gras insaturés et sont sensibles au froid. Ils dépérissent après une longue exposition aux basses températures (Hugly et Somerville, 1992 ; Miquel *et al*, 1993). En contraste, la mutation *fab1* (*fatty acid biosynthesis*) induit une augmentation des acides gras insaturés et rend le mutant résistant aux basses températures (> 0°C) (Wu et Browse, 1995). L'insaturation jouerait alors un rôle important dans l'augmentation de la résistance au gel.

- *Augmentation de la teneur d'acide abscissique (ABA)*

Peu d'études ont été réalisées sur le rôle de l'ABA dans le processus de résistance au gel des arbres. L'ABA s'accumulerait au début de l'endurcissement (Welling *et al*, 1997). Certaines études s'accordent pour dire que l'ABA pourrait avoir un rôle dans la voie de signalisation de l'endurcissement au gel (Sakai et Larcher, 1987 ; Qamaruddin *et al*, 1993 ; Welling et Palva, 2006). Il serait impliqué dans le contrôle photopériodique de la résistance au gel (Li *et al*, 2003a).

Nous avons donc vu précédemment que de nombreux travaux ont été réalisés pour mettre en évidence les modifications qui se produisent lors de l'acclimatation au gel. Les études effectuées sur le désendurcissement des ligneux sont beaucoup moins nombreuses.

2.4.2.2 Modifications biochimiques liées au désendurcissement

Le désendurcissement est associé à une réhydratation cellulaire (Kalberer *et al*, 2007) et relié à une diminution des osmolytes, notamment des sucres solubles (Ögren, 1997). Dans l'écorce de mûrier, le désendurcissement est associé à une diminution du ratio d'acides gras insaturés/saturés (de 2.1 à 1.6) et de la fluidité membranaire avec une augmentation du ratio stérols/phospholipides (de 0.48 à 0.77) (Yoshida, 1986). Peu de recherches ont été investies sur les changements protéiques durant cette phase.

2.4.3 Modifications cytologiques

Pomeroy et Siminovitch (1971) ont été les premiers à observer des changements cytologiques qui coïncidaient avec le cycle saisonnier de l'endurcissement au gel. Ils ont observés, au microscope électronique, des différences cytologiques entre les cellules de l'écorce de *Robinia pseudacacia* endurcies et celles non endurcies. Les figures sb.18 (a) et sb.18 (b) illustrent ces différences. En été, les cellules non endurcies montrent un noyau fusiforme localisé près de la paroi. Le milieu intracellulaire est majoritairement occupé par une très large vacuole. Le cytoplasme, réduit en une fine couche, est repoussé à la périphérie de la cellule par la vacuole. A la fin du mois d'octobre, la cellule montre un large noyau sphérique en position centrale. La vacuole est traversée par quelques filaments de cytoplasme. Il en résulte une augmentation du volume du cytoplasme et un fractionnement vacuolaire (figures sb.18 (b) et sb.19 (a)). Au contraire, dans les cellules corticales de mûrier, lors du désendurcissement, une large vacuole se forme (figure sb.19 (b)). Il apparaît que ces modifications intracellulaires jouent un rôle important dans l'adaptation des plantes aux

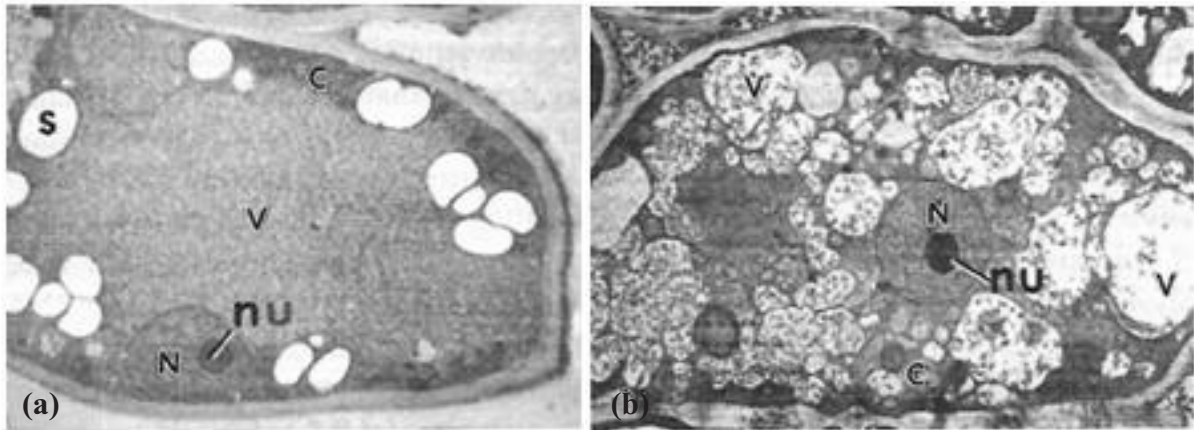


Figure sb.18 : Cellules parenchymateuses de tige de *Robinia pseudoacacia* le 21 août 1968 (a : cellule non endurcie, $\times 1800$) et le 21 Décembre 1968 (b : cellule endurcie, $\times 2350$) (nu : nucléole ; N : noyau ; v : vacuole ; c : cytoplasme ; S : amidon) (Pomeroy et Siminovitch, 1971).

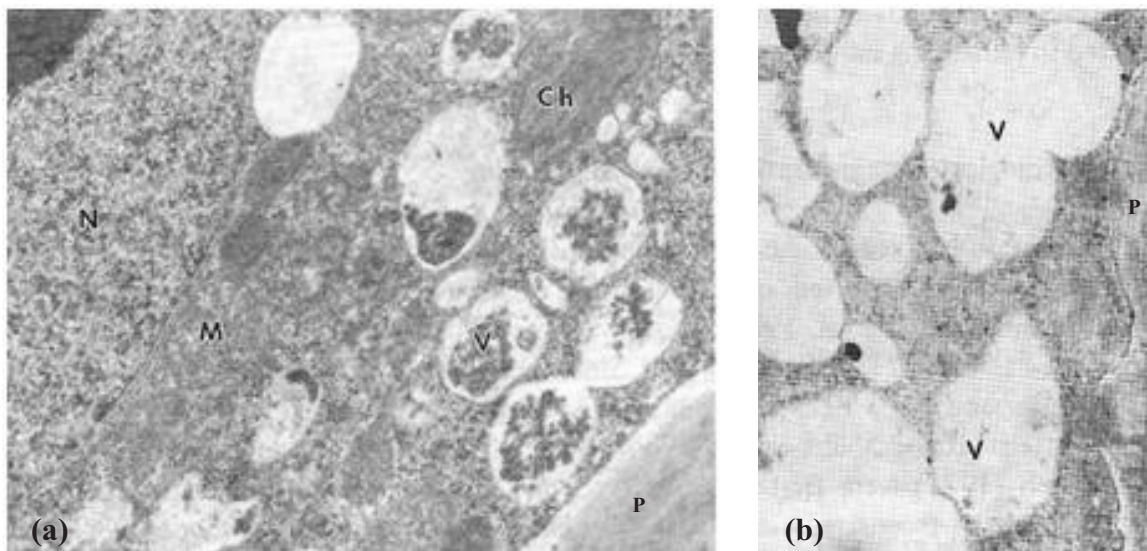


Figure sb.19 : Cellules corticales de mûrier (*Morus bombycis*). (a) Les rameaux sont collectés le 29 janvier. De petites vacuoles sont dispersées dans un cytoplasme dense ($\times 12000$). (b) Le 20 Mai, les vacuoles ont fusionnées, formant de larges vacuoles ($\times 13500$). (P : paroi, Ch : chloroplaste, M : mitochondrie, N : noyau, v : vacuole) (Derr et Evert, 1967 ; Niki et Sakai, 1981).

conditions environnementales. Wisniewski et Ashworth (1986) ont observé sur les rameaux de pêcher que les cellules corticales présentaient des modifications structurales analogues à celles des cellules du parenchyme xylémien et ils définissent ainsi quatre phases de modifications (figure sb.20). De plus, il apparaît que les changements d'état de la membrane plasmique et la formation de nombreuses microvésicules ('myelin-like bodies' et 'paramural bodies') sont essentiels à l'acquisition d'une haute tolérance au gel (Pomeroy et Siminovitch, 1971 ; Niki et Sakai, 1981 ; Wisniewski et Ashworth, 1986 ; Sakai et Larcher, 1987).

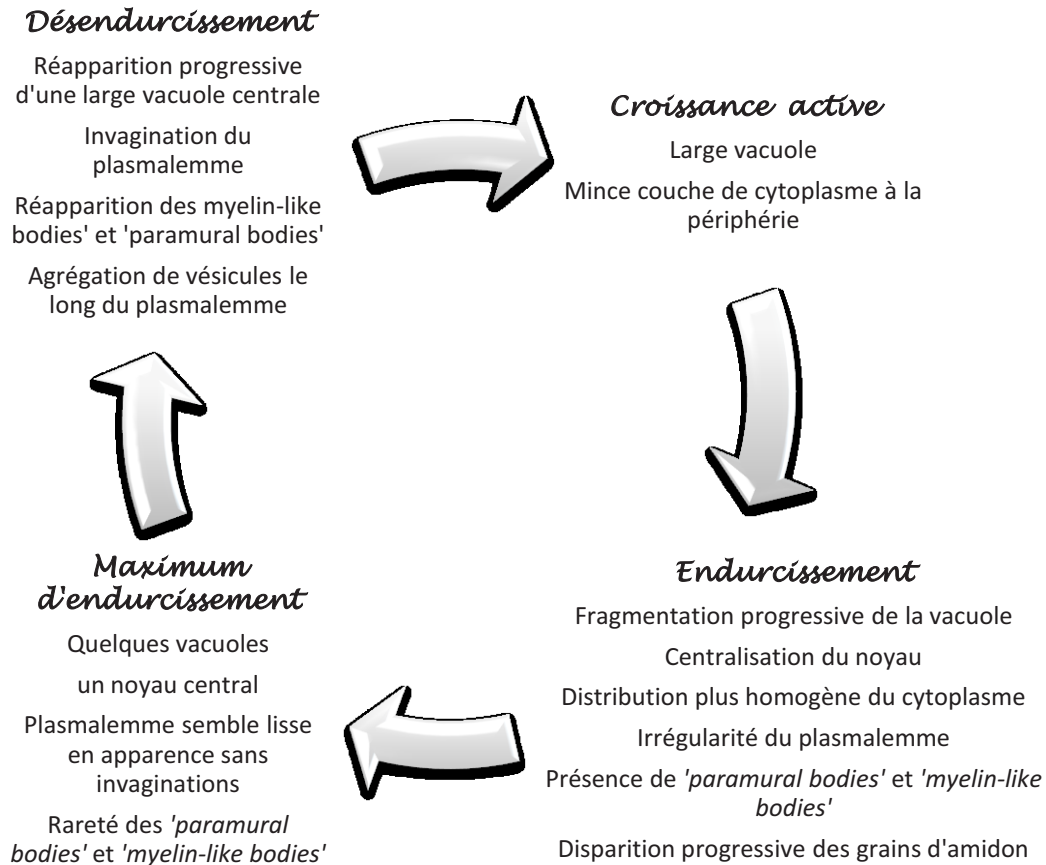


Figure sb.20 : Schéma récapitulatif des changements structuraux qui se produisent pendant le cycle annuel de résistance au gel ('paramural bodies' : groupement de plusieurs vésicules entre la paroi et le plasmalemme ; 'myelin-like bodies' : structure membranaire complexe associée au plasmalemme) (d'après les résultats obtenus par Wisniewski et Ashworth, 1986).

2.4.4 Le déterminisme génétique de la tolérance au gel

La résistance au gel implique un processus génétiquement programmé et intégré. Ce processus est multigénique mais peu de travaux se sont focalisés sur les gènes impliqués dans la résistance au gel des ligneux.

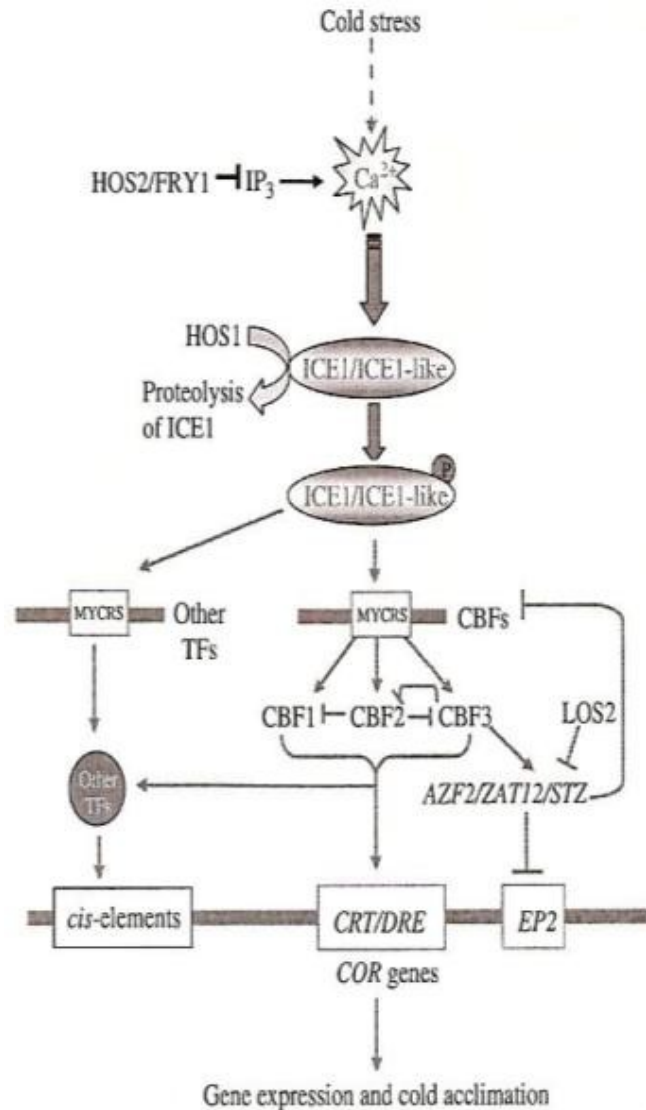
Un grand nombre de gènes induits durant l'acclimatation au gel codent des protéines pour lesquelles l'activité enzymatique est connue. Par exemple, chez *Arabidopsis thaliana*, le gène *FAD8* code une désaturase pour la synthèse des acides gras insaturés qui pourrait contribuer à la tolérance au gel en modifiant la composition lipidique des chloroplastes (Gibson *et al*, 1994). Les gènes *hsp70* de *Spinacia oleracea* L. (Anderson *et al*, 1994) et *hsp90* de *Brassica napus* L. (Krishna *et al*, 1995), codant pour des chaperones moléculaires, pourraient participer à la résistance au gel de la plante en stabilisant les protéines, les protégeant des dénaturations induites par les températures gélives. D'autres gènes s'exprimant

durant l'acclimatation ont été mis en évidence, mais, tous ne sont pas caractérisés (Thomashow, 1999 ; Sung *et al*, 2003).

Certaines recherches sur les céréales ont mis en évidence des changements métaboliques dus à l'expression de gènes spécifiques de la réponse au froid, les gènes *COR* (*COld-Responsive* or *COld-Regulated*). Ces gènes produisent des protéines COR extrêmement hydrophiles et stables aux hautes températures (Tsvetanov *et al*, 2000). Leurs fonctions sont multiples : outre les désaturases déjà citées, on retrouve des protéines antigels, des protéines pour la synthèse de composés osmoprotecteurs (sucres, proline, etc.), des chaperones permettant de stabiliser les protéines, des protéines pour la protection des membranes, des enzymes antioxydantes. Les protéines COR les plus connues sont les DHN/LEA/RAB (*Dehydrine/Late embryogenesis abundant proteins/proteins responsive to abscisic acid*). Chez *Arabidopsis thaliana*, les gènes COR se divisent en quatre familles : les gènes *LTI* (induit par les basses températures) (Nordin *et al*, 1991 ; Nordin *et al*, 1993), *RD* (répondant à la déshydratation), *ERD* (induit en premier lors d'une déshydratation) (Thomashow, 1999) et *KIN* (induit par le froid) (Kurkela et Borg-Franck, 1990, 1992 ; Chinnusamy *et al*, 2006) (*figure sb.21*).

Le gel est ressenti par les cellules végétales au niveau de leur membrane (Sung *et al*, 2003 ; Chinnusamy *et al*, 2006). Les changements de fluidité de la membrane et de conformation des protéines membranaires semblent faire partie du stimulus initial. La voie de signalisation de la résistance au gel est donc complexe et fait intervenir de nombreux protagonistes.

Durant l'acclimatation au gel, les cellules et les tissus des plantes subissent des changements qui permettent le fonctionnement des cellules et leur survie aux basses températures. L'acclimatation est accompagnée d'une réduction du contenu en eau des tissus et de l'accumulation de certains composés pour lesquels des propriétés cryoprotectantes sont possibles (ex. sucres solubles et protéines). Les altérations biochimiques de la membrane plasmique incluent des changements qualitatifs des protéines concomitantes avec une augmentation de la fluidité de la membrane, un enrichissement des phospholipides et une insaturation des acides gras. Les changements structuraux impliquent par exemple une augmentation de la taille du cytoplasme et une réduction du volume de la vacuole. Les modifications qui se produisent pendant le désendurcissement ont pour objectif de défaire tous les changements qui se sont produits pendant l'acclimatation.



Un signal calcique, induit par le stress « gel », est nécessaire à l'endurcissement. Le gel active les protéines ICE1 lesquelles induisent la transcription de CBFs et d'autres facteurs de transcription. CBFs autorégulent leur transcription afin d'optimiser leurs niveaux d'expression.

AZF2/ZAT12/STZ (répresseurs transcriptionnels en doigt de zinc) sont positivement régulés par CBFs et négativement régulés par LOS2. Ces répresseurs modèrent l'expression des facteurs CBFs et leur cible (les gènes *COR*).

(HOS2, gènes de type 2 s'exprimant fortement en réponse à un stress osmotique ; FRY1, inositol polyphosphate 1-phosphatase ; HOS1, gènes de type 1 s'exprimant fortement en réponse à un stress osmotique, ligase ubiquitine E3 à domaine 'RING Finger' ; IP₃ : inositol 1, 4, 5 triphosphate ; ICE1, inducteur de l'expression de CBF, facteur de transcription MYC-type/bHLH ; CBF, C-repeat-binding factor, facteur de transcription se liant au motif CCGAC ; LOS2, gènes de type 2 s'exprimant faiblement à la suite d'un stress osmotique, une émolase (bi-fonctionnelle) avec une activité de répression transcriptionnelle ; AZF2, STZ, ZAT12, répresseurs transcriptionnels à doigt de zinc de type cystéine-2 et histidine-2 ; EP2, éléments cis identifié à l'origine dans les promoteurs de gènes de 5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase ; CRT, C-repeat elements, motif CCGAC ; DRE, éléments répondant à une déshydratation ; MYCRS, séquence reconnu par le facteur de trans-crition MYC-type bHLH ; flèche pleine : induction de l'expression ; ligne finit par une barre : répression ; rectangle : activation).

Figure sb.21 : Régulation des facteurs de transcription par le gel (Extrait de Chinnusamy *et al*, 2006).

**Tableau récapitulatif des phénomènes intervenant au cours
du cycle annuel de résistance au gel**

L'environnement	Facteurs principaux	
	Photopériode – Jours courts Températures basses	Photopériode – Jours longs Températures douces
	Facteurs secondaires	
	Stress hydrique <i>Autres facteurs ?</i>	Excès d’N, Manque de Mg^{2+} et de K^+ , $[CO_2]$ élevée <i>Autres facteurs ?</i>
Le végétal	Modifications structurales	
	Fragmentation de la vacuole, Noyau central, Distribution homogène du cytoplasme, Plasmalemmes irrégulier qui devient lisse lorsque l’endurcissement est maximal, Disparition progressive des grains d’amidon, Présence de <i>paramural bodies</i> et de <i>myelin-like bodies</i> qui disparaissent par la suite	Réapparition progressive d’une large vacuole centrale Mince couche de cytoplasme à la périphérie Réapparition des <i>paramural bodies</i> et des <i>myelin-like bodies</i> Agrégation de vésicules le long du plasmalemmes
	Modifications biochimiques	
	Interconversion Amidon → Sucres solubles Augmentation des protéines non membranaires et des acides aminés Insaturation des acides gras (AG) (Augmentation de la fluidité de la membrane) Augmentation d’[ABA]	Interconversion Sucres solubles → Amidon Diminution du rapport $\frac{AG\ insaturés}{AG\ saturés}$ Diminution du rapport $\frac{stérols}{phospholipides}$
	Modification de l’expression du génome	
	Maximal en Hiver - Repos	Minimal en été - Croissance
	Endurcissement et résistance maximale	Désendurcissement et phase de croissance

Nous venons de voir que la résistance au gel est un processus complexe et indispensable pour la survie des espèces. Depuis quelques années, des modèles de prédiction se sont développés en biologie. La résistance au gel a fait l'objet de quelques travaux sur ce sujet.

2.5 La modélisation de la résistance au gel

Nous décrirons tout d'abord les recherches qui ont permis de développer le modèle de Leinonen *et al* (1996). Ce modèle est le seul actuellement qui soit relativement fiable. Ensuite, nous dégagerons les avantages et les nombreux inconvénients des différents modèles présentés.

2.5.1 Présentation des modèles

Des approches de modélisation de la résistance au gel ont été entrepris dans le but de pouvoir prédire le niveau de résistance au gel des arbres et d'anticiper les risques potentiels de gel encourus. Au cours de l'hiver, la résistance au gel atteint un niveau maximal qui se maintient sur une période plus ou moins longue (état stationnaire de résistance maximale) selon les espèces, qui dépend de la température et de la photosynthèse. Plusieurs modèles ont été présentés (Kobayashi *et al*, 1983 ; Anisko *et al*, 1994 cité par Leinonen *et al*, 1995 ; Timmis *et al*, 1994) pour décrire le développement de l'endurcissement au gel, mais peu d'entre eux incluent cette phase stationnaire de la résistance au gel. Une des premières modélisations à s'intéresser à la durée de la phase de résistance maximale au gel a été réalisée par REPO *et al* (1990), sur *Pinus sylvestris* L. Le modèle est un modèle dynamique simple (modèle linéaire) qui repose sur une seule variable : la température minimale de l'air.

Modèle dynamique de premier ordre de REPO *et al* (1990) :

Les expérimentations en laboratoire indiquent que la réponse de la résistance au gel au changement brutal des températures de l'air ambiant (en chambre) d'une valeur T_b à une valeur T_a varie progressivement jusqu'à se stabiliser à une valeur d'équilibre LT_a .

Cette fonction exponentielle $R(t) = (LT_a - LT_b) \left(1 - e^{-t/\tau}\right) + LT_b$ traduit le passage progressif de la température de résistance d'une valeur stable à la température T_a (LT_a) à une valeur stable à la température T_b (LT_b).

avec :

LT_a , valeur de résistance (LT) d'équilibre à la température T_a (fin de l'expérience) (°C) ;

LT_b , valeur de résistance (LT) stable à la température T_b (début de l'expérience) (°C) ;

τ est la constante de temps ;

Basé sur l'équation précédente, le modèle dynamique (différentielle) de la résistance au gel

suivant a été proposé : $\frac{dR}{dt} = \frac{1}{\tau} (\hat{R} - R(t))$, où

$R(t)$ est défini précédemment.

Dans un second temps, à cause du manque d'informations, $LT_a = \hat{R}(T_a)$, valeur stable de résistance à la température considérée (ici, T_a), est supposé évoluer dans le temps suivant la relation linéaire $LT_a = \hat{R}(T_a) = a \times \theta(T_a) + b$ avec :

a et b sont des constantes ;

θ est la température minimale de l'air ambiant.

Kellomäki *et al* (1992) modifia le modèle de Repo *et al* (1990) en divisant le cycle annuel des arbres en trois périodes (croissance, lignification et dormance), ce qui a permis d'inclure dans le modèle les différentes réponses de l'endurcissement au gel des arbres à l'environnement (Leinonen, 1996).

Leinonen *et al* (1995) développèrent le modèle de REPO *et al* (1990) en incluant, en plus de la température, l'effet de la photopériode sur la résistance au gel. Ils prennent également en compte l'état de développement de l'arbre en considérant l'intensité de la dormance (DBB : Days to Bud-Burst). Le niveau de résistance au gel est décrit comme un modèle dynamique de second ordre avec deux constantes de temps.

Modèle dynamique de second ordre de LEINONEN *et al* (1995) :

Le niveau stationnaire de la résistance au gel (= valeur asymptotique que finirait par atteindre \hat{R} (au bout d'un temps infini) si les conditions demeuraient stables (température, ...)) est le résultat de l'effet additionnel de la température et de la photopériode :

$$\hat{R}(t) = \hat{R}_{min} + \Delta\hat{R}_\theta + \Delta\hat{R}_p, \text{ avec :}$$

\hat{R}_{min} est le niveau minimale d'endurcissement, induit par les facteurs de l'environnement ;

$\Delta\hat{R}_\theta$ est l'augmentation d'endurcissement au gel induite par la température. Il s'exprime selon la formule suivant :

$$\begin{aligned}\Delta\hat{R}_\theta &= a_\theta \times \theta(t) + b_\theta, \theta_2 \leq \theta \leq \theta_1 \\ &= 0, \quad \theta \geq \theta_1 \\ &= \Delta\hat{R}_{\theta \max}, \quad \theta \leq \theta_2\end{aligned}$$

où : a_θ et b_θ sont des constantes;

θ_1 est la limite supérieure des températures ayant une influence sur la résistance au gel ;

θ_2 est la limite inférieure des températures ayant une influence sur la résistance au gel ;

$\Delta\hat{R}_{\theta \max}$ est l'augmentation maximale d'endurcissement au gel induite par les températures.

$\Delta\hat{R}_p$ est l'augmentation de la résistance au gel provoquée par la photopériode. Il s'exprime selon la formule suivante :

$$\begin{aligned}\Delta\hat{R}_p &= a_p \times NL(t) + b_p, NL_2 \leq NL \leq NL_1 \\ &= 0, \quad NL \geq NL_1 \\ &= \Delta\hat{R}_{p \max}, \quad NL \leq NL_2\end{aligned}$$

où : a_p et b_p sont des constantes;

NL_1 est la limite supérieure de la longueur des nuits ayant une influence sur la résistance au gel ; NL_2 est la limite inférieure de la longueur des nuits ayant une influence sur la résistance au gel ;

$\Delta\hat{R}_{p \max}$ est l'augmentation maximale d'endurcissement au gel induite par la photopériode.

Le modèle proposé par Leinonen et al (1995) est donc le suivant :

$$\text{Equation 1: } \frac{d\hat{R}_1}{dt} = \frac{1}{\tau_2} [\hat{R}(t) - \hat{R}_1(t)], \quad \text{Equation 2: } \frac{dR}{dt} = \frac{1}{\tau_1} [\hat{R}_1(t) - R(t)],$$

τ_1 et τ_2 sont des constantes de temps.

τ_2 prend en compte le stade de développement en considérant l'intensité de la dormance

(DBB). Il est exprimé selon la formule suivante : $\tau_2 = \max \left\{ \delta + \varepsilon \frac{1}{S_{rest}}, 1 \right\}$ avec :

δ et ε sont des constantes ;

$S_{rest} = d(DBB)/dt$ est l'état de la dormance. Elle correspond à la dérivée première de

$DBB = \alpha e^{\beta t} + \gamma$, où α , β et γ sont des constantes et t est la durée de froid prévue.

$R(t)$ a été défini par Repo et al (1990).

Leinonen (1996) développa un second modèle pour couvrir l'ensemble du cycle annuel de croissance des conifères. Ce modèle, issu des modèles présentés ci-dessus, est l'un des premiers à coupler la résistance au gel avec le stade de développement de la plante. Il est assez facilement transposable à d'autres espèces si l'on dispose de paramètres phénologiques précis et de la résistance au gel des tissus considérés (Chuine et Beaubien, 2001). Il simule la proportion de dommages par le gel dans les tissus en fonction de la température extérieure, de la durée pendant laquelle cette température persiste ainsi que de la capacité des organes à supporter cette température (capacité de résistance) (Levitt, 1978 ; Larcher, 1995).

Modèle dynamique de second ordre de LEINONEN et al (1996) :

Modèle de prédiction des dommages dus au gel :

Ce modèle considère que la proportion de feuilles endommagées (I) suit un modèle logistique :

$$\text{Indice des blessures sur les aiguilles : } I = \frac{1}{1 + e^{B(R-T)'}}$$

où T est la température minimale journalière ;

R est la capacité de résistance au gel des feuilles ;

B est la pente de la courbe logistique qui dépend de R selon une relation du type :

$$B = \alpha + \beta \cdot e^{\gamma R}$$

α , β et γ sont des constantes.

Modèle de prédiction du niveau d'endurcissement au gel :

La capacité de résistance au gel varie au cours du cycle de développement et sa variation dépend de la température et de la photopériode.

Capacité de résistance au gel :

$$\frac{dR(t)}{dt} = \frac{1}{\tau} [\hat{R}(t) - R(t)] \text{ avec } \hat{R}(t) = R_{\min} + C_R \times [\Delta \hat{R}_T(t) + \Delta \hat{R}_P(t)],$$

où $\Delta \hat{R}_T(t)$ est l'augmentation du niveau d'endurcissement au gel induit par les températures ;

$\Delta \hat{R}_P(t)$ est l'augmentation du niveau d'endurcissement au gel induit par la longueur des nuits ;

R_{\min} est le niveau minimal de la résistance au gel ;

τ est la constante de temps ;

C_R est la capacité d'endurcissement des cellules. Elle dépend du stade de développement de l'organe considéré et varie entre 0 et 1. Elle est minimale après le débourrement ($C_R = 0$). Elle est maximale ($C_R = 1$) pendant la période de dormance, et décroît pendant la période de croissance selon la relation suivante :

$$C_R = \max\left(1 - \frac{S_{frc}(t)}{FU_{critR}}, 0\right),$$

avec $S_{frc}(t) = \sum_{t_2}^t \frac{1}{1 + e^{-b[T_{moy}(t) - c]}}$ est calculé à partir du début de la période de croissance de la plante (t_2). Il utilise également les températures moyennes journalières ($T_{moy}(t)$) ;

FU_{critR} est le stade du développement critique lorsque $C_R = 0$, et est la somme des températures froides nécessaire au débourrement ;

b et c sont des paramètres calculés à partir des données expérimentales ;

Durant la phase de lignification, la capacité d'endurcissement retourne à son maximum. C_R est alors calculée comme étant dépendante de la somme des températures selon la relation $C_R = TS_{lgn}/TS_{critlgn}$.

avec TS_{lgn} est l'état de lignification, déterminé par la somme linéaire des températures ;

$TS_{critlgn}$ est la valeur critique de TS_{lgn} . Elle est atteinte lorsque la capacité d'endurcissement est à son maximum et lorsque l'arbre entre en dormance.

2.5.2 Avantages et inconvénients des modèles précédemment décrits

Modèle de Repo et al (1990) :

Ce modèle est assez bien adapté aux prédictions en plein champ, mais son utilisation est limitée aux aires géographiques et aux espèces pour lesquelles il a été paramétré. Un des premiers inconvénients est qu'il a été construit à partir d'un nombre limité de données. Il est basé sur de nombreuses simplifications qui ont été reconnu par ces auteurs comme inadéquates (Repo et al, 1990). Il prend en compte seulement la température alors que d'autres facteurs, comme la photopériode ou le stade de développement de l'arbre, ont un rôle

important dans l'endurcissement. Il est essentiel de faire intervenir l'état physiologique car, selon cet état, la capacité de résistance au gel du végétal n'est pas la même (Repo *et al*, 1990).

Modèle de Leinonen *et al* (1995) :

L'avantage de ce modèle est qu'il estime bien la résistance au gel automnale. Par contre, il surestime l'endurcissement au gel des arbres au printemps (Leinonen *et al*, 1996). Un autre inconvénient est qu'il nécessite un grand nombre de données pour déterminer les différentes constantes. De plus, certaines informations (constantes) ne peuvent pas être obtenues sur des arbres en conditions naturelles car il est impossible de séparer les effets des différents facteurs environnementaux (Leinonen *et al*, 1995). Il est donc difficilement applicable aux arbres en plein champ.

Modèle de Leinonen *et al* (1996) :

Ce dernier modèle de prédiction de la résistance au gel est le plus complet. Il prend en compte un grand nombre de facteurs (température, photopériode, stade de développement). Mais, il nécessite un lourd travail de paramétrisation pour déterminer toutes les variables du modèle. Il ne tient pas compte de l'état physiologique de l'arbre (suite à divers stress : sécheresse, ombrage, défoliation, carence minérale, ...) en dehors du stade de développement qui ne varie pas ou peu en fonction de ces conditions estivales de croissance.

A ce jour, le modèle de Leinonen *et al* (1996) est utilisé dans certains modèles de prédictions des aires de répartition de certaines espèces d'arbres (*Quercus sp*, Morin *et al*, 2005). De part ses quelques inconvénients et du fait qu'aucun de ces modèles ne tient compte de l'état physiologique de l'arbre se développant sous contraintes (ex. sécheresse estivale), il est nécessaire de développer un modèle plus simple, s'appuyant sur des variables physiologiques et climatiques pour simuler la résistance au gel des arbres dans un climat changeant (*cf.* chapitre II des résultats).

Matériels et Méthodes



1 Matériel végétal

Le noyer a été utilisé dans cette étude. Les noyers adultes en conditions naturelles, ont été choisis parmi la collection variétale du domaine de Crouelle de l'U.M.R. P.I.A.F de l'INRA de Clermont-Ferrand/Theix. Les noyers en conteneur ont été fournis par un pépiniériste, spécialiste des noyers greffés.

Nos expérimentations ont fait intervenir deux sites : le domaine de Crouelle, près de Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme, 63 ; altitude : 339m ; 45°46'30.11''N ; 3°08'34''E), et la commune de Saint-Genès-Champanelle (Puy-de-Dôme, 63 ; altitude : 889m ; 45°43'08.76''N ; 3°01'01.50''E).

La proximité de la station météo d'Aulnat (à 500m environ du lieu d'étude) a permis d'obtenir les données météorologiques nécessaires à la définition du climat du site expérimental du domaine de Crouelle. Pour la parcelle située sur la commune de Saint-Genès-Champanelle, les données proviennent d'une station météo située sur le site d'étude (réseau agrométéorologique de l'INRA). Sur ces relevés, seules les températures minimales et maximales journalières (en °C), ainsi que la hauteur des précipitations journalières (en mm) ont retenu notre attention pour caractériser les différents climats.

1.1 Le Noyer

Le noyer commun ou *Juglans regia* L, selon la classification donnée par Lecointre et Le Guyader (2001) appartient à l'ordre des Fagales et à la famille des Juglandacées. Le genre *Juglans* comprend plus de vingt espèces, réparties de l'Europe à l'Asie orientale ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud. Probablement présent en Europe avant l'époque glaciaire, puis repoussé dans des régions plus chaudes par l'avancée des glaces, le noyer commun ou noyer royal (*Juglans regia* L.) aurait été de nouveau disséminé depuis les montagnes d'Asie centro-occidentale en Chine, en Indes et en Perse. Il aurait été répandu dans le bassin méditerranéen et en Europe par les Grecs et les Romains (Becquey, 1997).

Le choix du noyer a été motivé par le fait qu'une base de données physiologiques substantielle sur cet arbre, existe au sein de notre laboratoire depuis plus de 20 ans et par la richesse du matériel végétal disponible sur le site de l'INRA de Clermont-Ferrand/Theix (nombreuses variétés de noyer, rapidité de mise en place des expérimentations).

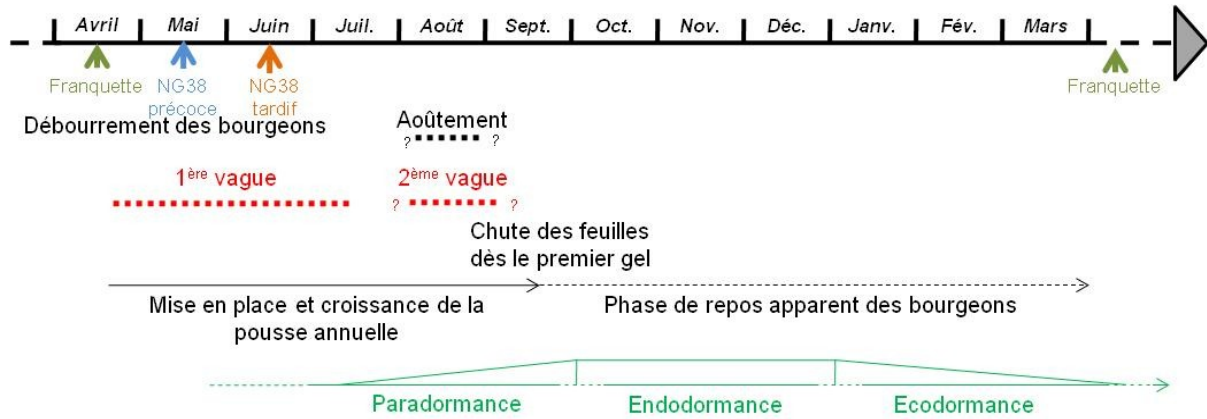
Mais avant de présenter le matériel végétal utilisé durant cette thèse, nous allons faire un rappel sur la biologie et la phénologie du noyer commun (*Juglans regia*).

Les noyers sont, en générale, de grands arbres, rarement des arbustes. Leurs feuilles sont caduques, composées, imparipennées et longuement pétiolées. Elles sont légèrement engainantes, formées d'un rachis volumineux, gonflé à la base, et creusé en sa partie supérieure d'une dépression en forme de gouttière. Elles sont constituées de 5 ou 9 folioles qui sont lancéolées et de couleur verte ou brun-verdâtre. Les bourgeons végétatifs sont globuleux, brun et constitués d'une paire d'écailles. Ils sont plus petits que les bourgeons à fleurs mâles (chatons). L'écorce du tronc est lisse et blanchâtre lorsque l'arbre est encore jeune, se fendille et se gerce verticalement avec le temps, prend un reflet gris argenté, cendré. Le système racinaire du noyer est pivotant. Le pivot disparaît progressivement quand l'arbre vieillit (Petit 1985, Coste, date inconnue).

C'est un arbre monoïque : les fleurs mâles et femelles unisexuées sont séparées, mais portées par le même arbre. Les fleurs mâles jaune-verdâtre sont regroupées en gros chatons allongés, multiflores et axillaires à la base des rameaux de l'année précédente, sur lesquels ils s'incèrent latéralement. Chaque fleur est disposée à l'aisselle d'une bractée, accompagnée de deux bractéoles. Le calice est écailleux. On observe un périanthe de deux ou trois pièces sépaloïdes, enveloppant l'androcée à nombres variables d'étamines (18 à 36). Les fleurs femelles courtes, pauciflores, sont situées à l'extrémité des rameaux de l'année et sont groupées par 2, 3 voire 4. Elles sont constituées par des bractées, soudées entre elles et un calice tétramère (4 sépales), qui adhère fortement à l'ovaire, à la base du pistil. Le calice provient de la soudure des marges des 2 carpelles. L'ensemble du périanthe est formé de 3 ou 4 pièces soudées à l'ovaire. L'ovaire infère et bicarpellé est uniloculaire, en dépit de la présence de quatre fausses cloisons qui apparaissent au cours de la croissance. Les inflorescences sont localisées sur le bois d'un an. La floraison est éphémère et, pour une même variété, elle se caractérise souvent par un décalage assez important entre l'émission du pollen et la pleine floraison femelle. Les possibilités d'autofécondation d'un arbre restent donc faible au maximum pendant une semaine (Petit, 1985). Le fruit est drupacé, arrondi et de couleur verte. Il est formé d'un brou charnu qui se déchire irrégulièrement à maturité. Il est constitué d'une noix à 2 valves ligneuses, ridées, renfermant une amande à 4 lobes sinués et lobulés (Coste, date inconnue). Sous nos climats, ils débourrent entre mars et mai et produisent généralement un seul flush de croissance composé d'une tige feuillée non ramifiée. Ceci est particulièrement vrai pour les arbres adultes. En juillet/août, le bourgeon apical entre

en état de dormance et la croissance longitudinale s'arrête, mais la croissance en diamètre continue (Améglio *et al*, 2001).

Phénologie d'une pousse de noyer



Le développement architectural des jeunes noyers est caractérisé par une forte dominance apicale. Le plant d'un an montre une tige dressée non ramifiée. Le bourgeon apical du tronc, au cours des premières années, forme des pousses annuelles successives de longueur croissante. Entre la deuxième et la quatrième année, la ramification fait son apparition. A partir d'un certain stade de développement, les branches elles-mêmes peuvent se ramifier. Le jeune arbre continue son développement par la formation de branches de plus en plus vigoureuses, réparties en étage sur le tronc et ramifiées. A la face inférieure de ces branches, de puissants rameaux se développent dans les zones de courbure donnant à ces ensembles ramifiés une structure en arceaux successifs. La floraison peut avoir lieu dès que les arbres sont âgés de 8 à 9 ans. La floraison femelle étant terminale, la croissance de la tige est stoppée. Le développement ultérieur des rameaux florifères est assuré par 1 à 2 relais qui naissent à partir des bourgeons latéraux insérés immédiatement sous l'inflorescence terminale (développement sympodial : « l'œil à cou »). Sur l'arbre adulte, la floraison femelle terminale finit par atteindre toutes les tiges. Des relais se développent sous l'inflorescence terminale aboutissant à la formation d'une fourche. Ce phénomène peut affecter toutes les tiges et notamment le tronc. La fourchaison se reproduit ensuite au cours des floraisons successive et affecte toutes les tiges de l'arbre qui, d'une forme bien hiérarchisée autour d'un tronc jeune, passe à l'état adulte à une forme en boule. Sur l'arbre plus âgé, les branches charpentières au sommet de l'arbre continuent à se construire par une succession sympodiale d'axes relais et de fourches, tandis que les branches les plus basses s'affaissent et commencent à s'élaguer (Barthélémy *et al*, 1995).

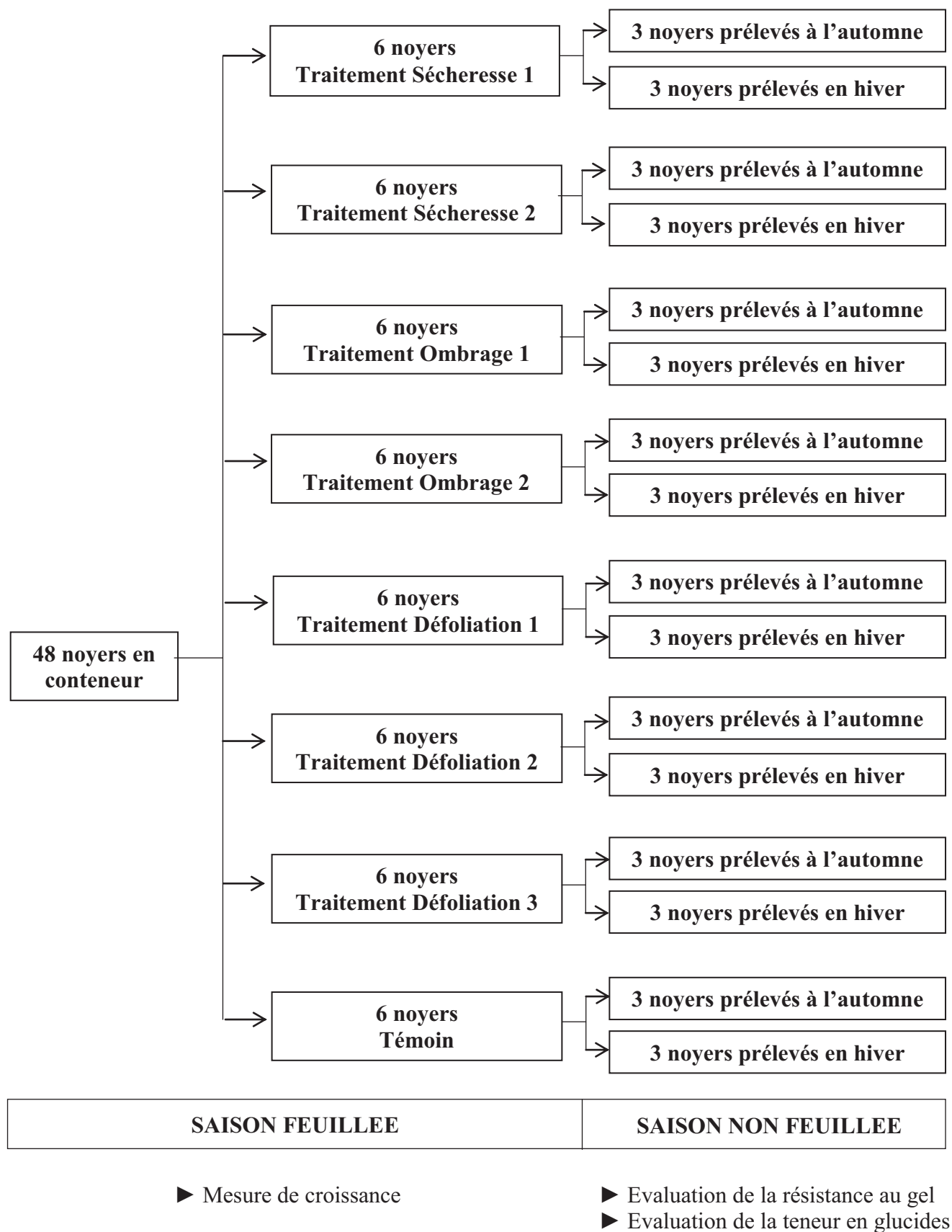


Figure m.1 : CAMPAGNE NOYER 2004-2005

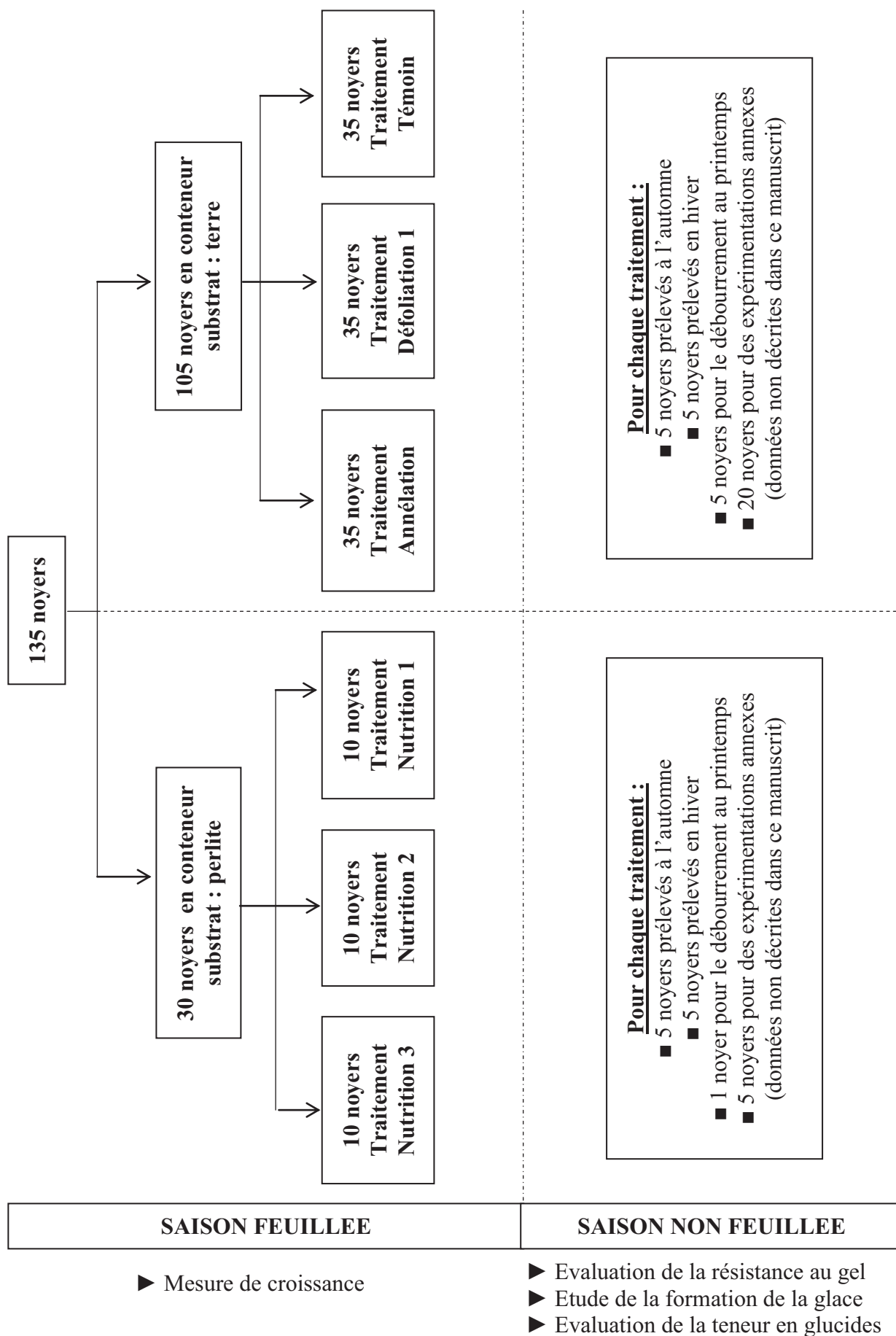


Figure m.2 : CAMPAGNE NOYER 2005-2006

Deux campagnes d'expérimentation ont été menées : de mai 2004 à mai 2005 et de mai 2005 à mai 2006, sur des noyers (*Juglans regia* L. cultivar 'Franquette') en conteneur et en conditions naturelles. Les arbres en conteneur sont de jeunes noyers greffés âgés de 3 ans. Les arbres proviennent de la pépinière Payre (Isère, 38). Pour la première campagne d'expérimentation (2004-2005) (*figure m.1*), nous avons utilisé 48 jeunes noyers et avons formé 8 lots de 6 arbres :

- 1 lot témoin (T),
- 1 lot défolié précoce (D1) (§ 1.2.1.2),
- 1 lot défolié tardif (D2) (§ 1.2.1.2),
- 1 lot défolié très tardif (D3) (§ 1.2.1.2),
- 1 lot ombrage précoce (O1) (§ 1.2.1.3),
- 1 lot ombrage tardif (O2) (§ 1.2.1.3),
- 1 lot sécheresse en début de saison estivale de croissance (S1) (§ 1.2.1.1),
- 1 lot sécheresse en fin de saison estivale de croissance (S2) (§ 1.2.1.1).

En 2005-2006, 135 jeunes noyers en conteneur de 3 ans ont été conditionnés et répartis de la manière suivante (*figure m.2*) :

- 105 arbres sont plantés dans le même substrat que celui de la première campagne pour former 3 lots de 35 arbres :
 - ✓ 1 lot témoin (T),
 - ✓ 1 lot défolié précoce (D1) (§ 1.2.1.2),
 - ✓ 1 lot annélation (G) (§ 1.2.1.4).
- 30 arbres restants sont plantés dans la perlite pour réaliser 3 lots de 10 arbres :
 - ✓ 1 lot carence azotée précoce (N1) (§ 1.2.1.5),
 - ✓ 1 lot carence azotée tardive (N2) (§1.2.1.5),
 - ✓ 1 lot alimenté d'une solution nutritive complète (N3) (§1.2.1.5).

Notre travail a également porté sur des arbres adultes greffés poussant en pleine terre, en verger : des arbres de la variété *Juglans regia* L. cv. 'Franquette' et des hybrides 'NG38' issus de semis (*Juglans nigra* L. x *Juglans regia* L.). Ces derniers étant intéressants dans la mesure où ils présentent des dates de débourrement décalées d'au moins 3 semaines par rapport aux arbres 'Franquette' plus précoces.

Pour l'étude de l'impact du climat sur la capacité des arbres à résister au gel d'hiver, nous avons utilisé 2 lieux de cultures différents : le domaine de Crouelle de l'I.N.R.A. de

Clermont-Ferrand (en plaine, altitude : 339m) et d'une parcelle située à Saint-Genès-Champanelle (site I.N.R.A. de Theix, en moyenne montagne ; altitude : 889m). Sur le site de Crouelle, 5 individus 'Franquette' et 5 individus 'NG38' avaient été plantés en 2000. La même année, 10 individus des deux mêmes espèces avaient également été mis en pleine terre sur le site de Theix. Au moment de l'expérimentation de 2004-2005, ils étaient âgés de 6 ans.

Pour l'étude de la précocité du débourrement sur la résistance au gel, nous avons sélectionné, parmi les hybrides NG38, des arbres présentant un décalage dans leur date de débourrement d'un mois environ. Deux lots, au débourrement précoce (début mai, $n = 5$) et au débourrement tardif (début juin, $n = 5$) ont été plantés en plein champ en 1997 sur le site de Crouelle. Au moment de l'expérimentation de 2004-2005, ils étaient âgés de 8 ans.

Nous avons également utilisé un lot d'hybrides NG38 "accompagnés" ($n = 5$), c'est-à-dire plantés au milieu d'autres espèces d'arbres (olivier de bohême (*Elaeagnus angustifolia* L.), prunier sauvage (*Prunus domestica* L.), aulne (*Alnus glutinosa* L.)) en compétition pour les ressources du sol. Les données recueillies sur ce matériel ont été utilisées pour valider notre modèle. Au moment de l'expérimentation de 2004-2005, ils étaient âgés de 8 ans.

Sur ces lots d'arbres, les expérimentations ont eu lieu en 2004-2005. Les noyers adultes Franquette du domaine de Crouelle ont également été utilisés en 2005-2006.

L'ensemble du matériel végétal, hormis les arbres en perlite, présente le même substrat. Ils ont été placés sur une aire de culture à ciel ouvert pouvant, en cas d'orage ou de fortes pluies, être protégée par un abris roulant sur rails.

1.2 Conduites culturales

1.2.1 Arbres en conteneur

Nous avons utilisé deux types de substrat :

- la perlite et
- un mélange de $\frac{1}{3}$ de tourbe brut d'Auvergne et de $\frac{2}{3}$ de terre de Limagne du site de Crouelle (sol argilo-calcaire à forte teneur en matière organique). De la pouzzolane est incorporée au mélange pour aérer le substrat et éviter les problèmes d'asphyxie.

Les jeunes noyers ont été conditionnés dans des conteneurs de 35 litres. 3 à 4 bourgeons végétatifs sont conservés pour l'élaboration de la partie feuillée.

Les arbres en conteneur ont été irrigués par un système de goutte à goutte. L'arrosage a lieu deux fois par jour : un arrosage le matin et un arrosage le soir. Le temps d'arrosage a été modulé selon le développement foliaire des arbres et le climat.

La bactériose a été détectée sur les noyers semaine 14. Pour y remédier, un traitement à la bouillie bordelaise ($1,25 \text{ kg.hl}^{-1}$) a été appliqué par pulvérisation. Les noyers ont reçu, en 2005 seulement, de l'engrais sous forme de granule (amonirate, 30 g par pot de 35 litres, 1 seule fois) à la semaine 29.

Les conduites culturales imposées aux arbres ont été réalisées afin de simuler certains scénarii de fortes contraintes abiotiques (stress hydrique, carence azotée, défoliation).

Les différents traitements ont, notamment, pour objectifs :

- d'obtenir une gamme de teneur en réserves carbonées,
- de voir, suite à ces conditionnements, si la mise en réserve du carbone est spatialement homogène ou si au contraire, certains organes sont favorisés au détriment d'autres,
- de mettre en évidence si la période d'application des différents traitements influe elle-même sur les capacités de résister au gel hivernal.

1.2.1.1 Conditionnement « Sécheresse »

Le conditionnement « sécheresse » a été réalisé pendant la première campagne d'expérimentation 2004-2005 (*figure m.3*). Le traitement "sécheresse" a été réalisé par simple arrêt de l'irrigation. La terre des conteneurs est recouverte d'un plastique sur lequel est apposée une feuille réfléchissante afin de réduire la surchauffe par le rayonnement solaire. Ce dispositif permet de protéger le substrat des pluies et de limiter la perte en eau du sol par évaporation. En fin d'expérimentation, lorsque le seuil de cavitation est atteint une quantité d'eau égale à celle transpirée la veille (au maximum 200 g d'eau) est fournie aux arbres. Deux lots de 6 arbres ont été utilisés pour ce conditionnement. Le premier lot a été conditionné pendant la première phase de croissance des noyers (S1). Le deuxième lot a subi ce traitement pendant la deuxième phase de croissance (S2). La durée des différentes périodes d'application est donnée par la *figure m.4*.



Figure m.3 : Noyers utilisés pour le traitement « sécheresse » (du 2 juin au 31 août 2004).

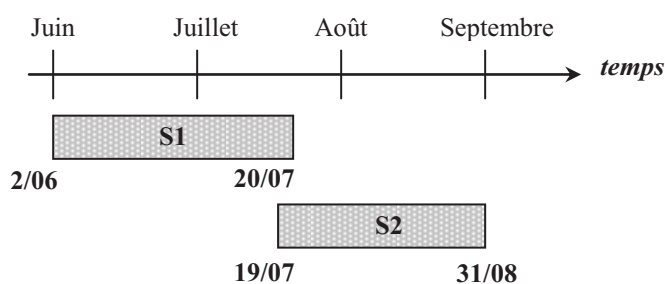


Figure m.4 : Période d'application du stress « sécheresse » (campagne 2004-2005).

Trois arbres par lots ont été équipés de microcapteurs de déplacement (LVDT : Linear Variable Differential Transformer) pour suivre en continue la croissance en diamètre du tronc.

1.2.1.2 Conditionnement « Défoliation »

Le conditionnement « défoliation » (*figure m.5 (a)*) a été réalisé durant les deux campagnes d'expérimentation. L'objectif de ce type de conditionnement était principalement de réduire fortement les réserves glucidiques. Les jeunes pousses ont été défoliées de l'ensemble de leurs feuilles, à l'exclusion des deux dernières feuilles formées, à l'aide d'une paire de ciseaux. Il est important de maintenir ces feuilles à l'extrémité des pousses afin de permettre la régulation de la température des rameaux par la transpiration. Au cours de l'été, la défoliation est entretenue lorsque de nouvelles feuilles sont émises. La surface foliaire enlevée est estimée (cf. § 2.2.3).

Pour le noyer, trois types de défoliation ont été réalisés pendant la campagne d'expérimentation 2004-2005. Un premier lot ($n = 6$) est défolié à partir du 10 juin 2004 (Défoliation de type 1 : D1), un deuxième lot à partir du 22 juillet 2004 (Défoliation de type 2 : D2) et enfin un troisième lot à partir du 6 septembre 2004 (Défoliation de type 3 : D3) (*figure m.6*). La défoliation tardive (D3) a été réalisée afin de provoquer une mobilisation précoce des réserves glucidiques (Améglio, données non publiées). En 2005, 35 arbres ont été défoliés à partir du 17 juin. Pour les deux années d'expérimentation, trois arbres par lots ont été équipés de LVDT pour suivre en continue la croissance en diamètre du tronc (*figure m.5 (b)*).

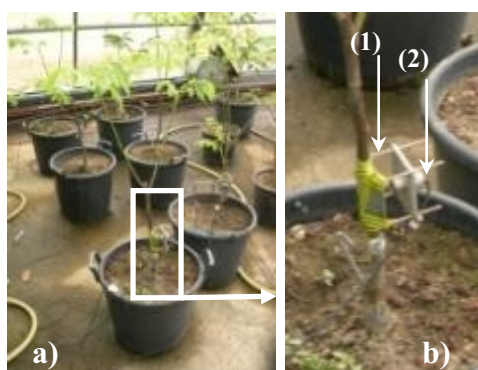


Figure m.5 : Arbre défolié (a) et son capteur LVDT (b) Partie zoomée ((1) porte capteur ; (2) : capteur LVDT).

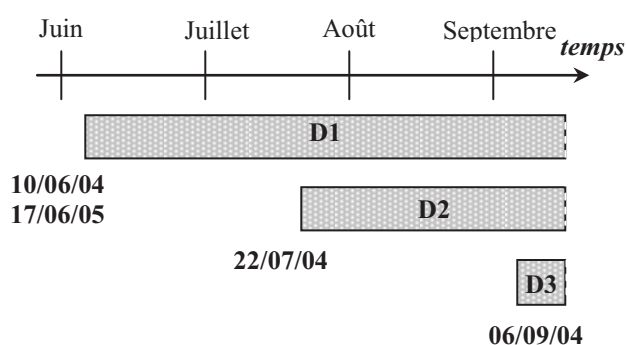


Figure m.6 : Période d'application des traitements « défoliation ».

1.2.1.3 Conditionnement « Ombrage »

Le conditionnement « ombrage » a été réalisé pendant la première campagne d'expérimentation (2004-2005). Les arbres destinés à ce conditionnement sont placés sous une structure métallique qui est recouverte par un filet plastique vert (*figure m.7*). Un tel dispositif, nous a permis de réduire le rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) d'un facteur 4 ($4,34 \pm 0,05$ en moyenne sur la période d'expérimentation soit 117 jours). Deux types de conditionnements « ombrage » ont été réalisés. Le premier (O1) a débuté le 10 juin 2004. Le deuxième (O2) a débuté le 19 juillet 2004 (*figure m.8*). Trois noyers par lots ont été équipés de LVDT pour suivre en continue la croissance en diamètre du tronc.



Figure m.7 : Noyers sous ombrage.

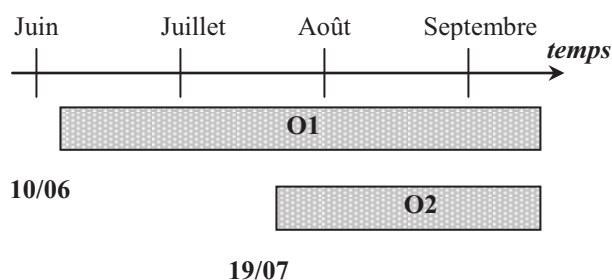


Figure m.8 : Périodes d'application du stress « ombrage ».

1.2.1.4 Conditionnement « Annélation »

L'objectif de ce conditionnement est de créer un déséquilibre dans la répartition des réserves carbonées en enrichissant les organes situés au dessus de l'anneau de décortication et à l'opposé en diminuant les réserves carbonées des organes situés en dessous de cet anneau.

Le traitement « annélation » (G) a été effectué durant la deuxième campagne d'expérimentation (2005-2006). Ce traitement a consisté à éliminer l'écorce (et le phloème) du tronc sur un anneau de 2 cm de hauteur environ à l'aide d'un scalpel (*figure m.9 et m.10*). On maintient ainsi les produits de la photosynthèse dans la partie située au dessus de l'anneau de décortication. De la graisse de silicone est utilisée pour limiter l'évaporation au niveau du bois mis à nu. Du ruban adhésif en aluminium est ensuite placé autour de l'anneau de décortication pour éviter les gradients thermiques. Trois arbres ont été équipés avec deux

capteurs LVDT chacun pour suivre en continue la croissance en diamètre du tronc, de part et d'autre de l'anneau de décortication.



Figure m.9 : Schéma de l'annélation (b) Zone décortiquée des troncs des arbres. On peut observer les capteurs LVDT entourant l'anneau de décortication. (c) Partie zoomée : anneau de décortication.

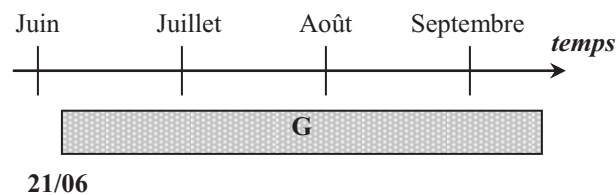


Figure m.10 : période d'application du stress « annélation ».

1.2.1.5 Conditionnement « Carence azotée »

Ce traitement a été réalisé sur le noyer durant la deuxième campagne d'expérimentation (2005-2006). Les 30 arbres, plantés dans la perlite, sont utilisés pour ce conditionnement. Sur les conteneurs a été collée une toile noire sur laquelle un feutre gris clair a été apposé. Ce dispositif nous a permis de limiter le verdissement en surface de la perlite et l'échauffement du plastique (*figure m.11*). Trois lots de 10 arbres ont été réalisés au hasard. Deux lots ont été carencés en azote : un stress de carence azotée a commencé le 14 juin 2005 (N1) ; le second a commencé le 25 juillet 2005 (N2). Le troisième lot a été arrosé avec de la solution nutritive complète (N3) (*figure m.12*). Il est considéré comme le lot

Tableau m.2 : Fréquence des périodes d'arrosage des arbres en perlite.

Période		Arrosage	
<i>du</i>	<i>au</i>	<i>Début d'arrosage</i>	<i>Fin d'arrosage</i>
16/05/05	5/06/05	6 h	6h 15
6/06/05	16/06/05	6 h	6h 15
8/07/05	11/07/05	15 h	15h 15
		21 h	21h 15
17/06/05	19/06/05	6 h	6h 15
		11 h	11h 10
		16 h	16h 10
		21 h	21h 10
20/06/05	7/07/05	6 h	6h 15
12/07/05	17/07/05	11 h	11h 10
		14 h	14h 10
		16 h	16h 10
		21 h	21h 10
18/07/05	19/07/05	0 h	0h 15
		6 h	6h 15
		11 h	11h 10
		14 h	14h 10
		16 h	16h 10
		21 h	21h 10
20/07/05	26/09/05	0 h	0h 20
		6 h	6h 20
		11 h	11h 15
		14 h	14h 15
		16 h	16h 15
		21 h	21h 15

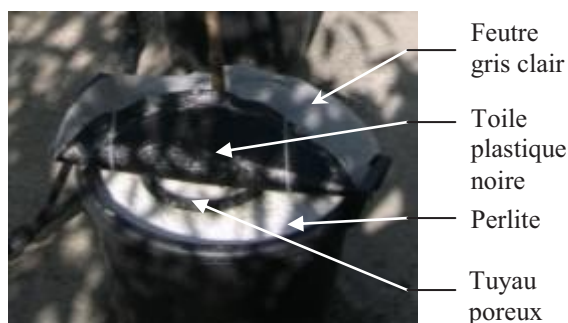


Figure m.11 : Dispositif d'arrosage en solution nutritive des arbres en carence azotée.

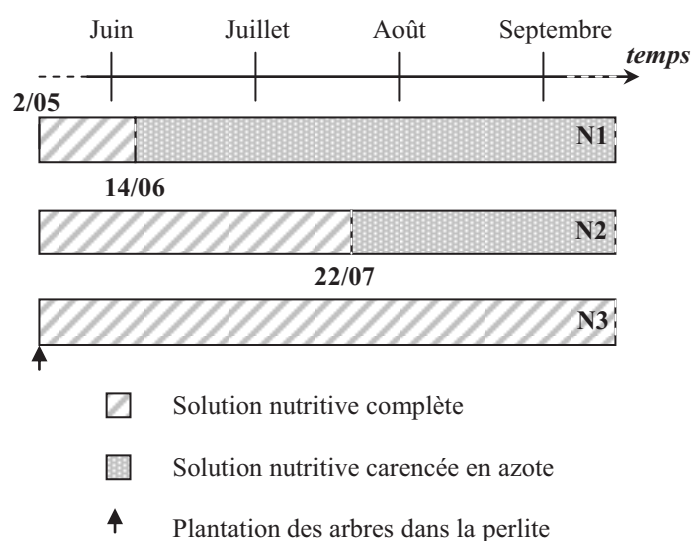


Figure m.12 : Période d'application du stress « carence azotée ».

témoin. La composition des solutions utilisées est donnée dans le *tableau m.1*. Les solutions nutritives sont placées dans des cuves de 500 litres et distribuées autour du tronc à la surface du pot à l'aide d'un tuyau poreux (*figure m.11*), grâce à une pompe (SXM3/A, FLYGT, Italie). De cette manière, une plus grande surface de perlite est hydratée.

Les périodes d'arrosage et leur durée sont données dans le *tableau m2*. Le nombre et la durée des périodes d'irrigation ont été adaptés selon les conditions climatiques. Après la période estivale, les arbres sont placés dans une serre en hors gel et l'irrigation est réduite à deux arrosages par jour (un le matin et un le soir).

Tableau m.1 : Composition des solutions nutritives (* : apporté par l'eau du robinet ; nd : non déterminé).

Macroéléments en mmol.L ⁻¹	Solution complète	Solution carencée en azote	Eau du robinet (Clermont-Ferrand P.I.A.F.)
K ⁺	1.1	1.1	0.11
Na ⁺	0.71	0.71*	0.71
Ca ²⁺	6	6	3.18
Mg ²⁺	2.94	2.94	2.02
NH ₄ ⁺	0	0	0
NO ₃ ⁻	2	0.52*	0.52
PO ₄ ³⁻	1.53	1.53	-
SO ₄ ²⁻	4.84	4.98	2.42
Cl ⁻	0.46	1.87	0.46
Microéléments en µmol.L ⁻¹	(B : 0.4%, Cu : 0.3%, Fe : 1.75%, Mn : 0.3%, Mo : 0.01%, Zn : 0.3%) : solution mère diluée 25 000 fois (Fertoligo L)		
Mg ²⁺ (chélaté EDTA)	27	27	nd
B ³⁺	14,8	14,8	nd
Cu ²⁺	1,9	1,9	nd
Fe ²⁺	12,5	12,5	nd
Mn ²⁺	2,18	2,18	nd
Mo ⁺	0,04	0,04	nd
Zn ²⁺	1,84	1,84	nd
pH	7.43	nd	7.51

Remarque : l'apport des microéléments a été fait à partir d'une solution prête à l'emploi disponible dans le commerce (Fertoligo L).

1.2.1.6 Défoliation finale des arbres

Afin de synchroniser l'endurcissement de tous les arbres en conteneur, une défoliation totale de l'ensemble des arbres a été pratiquée le 7 octobre 2004 et le 27 septembre 2005.

1.2.2 Arbres en plein champ

En 2004-2005, les hybrides et les noyers 'Franquette' en plein champ n'ont pas subi de traitement particulier en dehors des aléas du climat.

En 2005-2006, 5 noyers de la variété 'Franquette', plantés en 2000, du site de Crouelle ont été sévèrement taillés en conservant trois charpentières. Chaque charpentièrre a subi un traitement : la première est considérée comme la charpentièrre "témoin". A partir du 28 juin 2005, la charpentièrre la plus haute a été traitée par une "défoliation précoce" (*cf.* 1.3.1.2.). Enfin, la troisième charpentièrre a été conditionnée, le 1 juillet 2005, par un traitement "annélation" (*cf.* 1.3.1.4). L'anneau de décortication a été pratiqué sur les branches d'âge $n+1$. Le 3 octobre 2005, ces arbres ont été totalement défoliés. Des capteurs LVDT ont été placés sur les 3 charpentières pour suivre en continue la croissance en diamètre des branches d'âge $n+1$. Ce dispositif est répété sur 3 arbres.

2 Méthodes de mesure des paramètres physiologiques des arbres

2.1 Etat hydrique

Afin de suivre le niveau de stress hydrique appliqués aux noyers, la transpiration relative, le potentiel hydrique foliaire de base (avant le lever du soleil) et le potentiel hydrique minimal du xylème (à midi solaire) ont été mesurés.

2.1.1 Mesure du potentiel hydrique foliaire par la chambre de pression

Nous utilisons la méthode de Scholander *et al* (1964). Cette méthode est simple, rapide et sûre. Elle a, par contre, l'inconvénient d'être destructrice.

Dans une feuille qui transpire, la valeur du potentiel hydrique (ψ) varie quelque peu d'une cellule à une autre. Cependant, si la transpiration est constante et si le contenu en eau de la feuille ne varie pas (elle reçoit autant d'eau qu'elle en perd), on peut définir un potentiel hydrique moyen de cette feuille, ψ_f . Ce potentiel, égal en première approximation au potentiel hydrique des cellules de la feuille, représente la tension de la sève mesurée par la chambre de pression. Lorsqu'on introduit une feuille dans la chambre, la section opérée lors du prélèvement a mis à jour les vaisseaux conducteurs du xylème et a créé un ménisque air-sève à ce niveau (figure m.13).

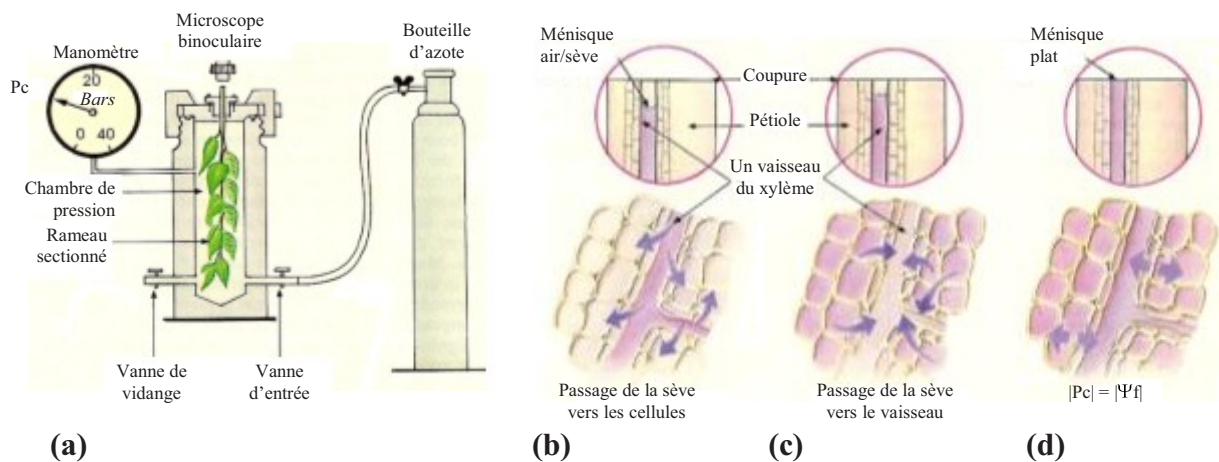


Figure m.13 : (a) Schéma d'une chambre de pression. (b), (c) et (d) Schéma explicatif du principe de la chambre de pression (extrait de Cruiziat et Tyree (1990)).

Du fait de la largeur des vaisseaux (quelques dizaines ou centaines de μm), ce ménisque air-sève est aspiré vers les autres cellules foliaires vivantes où le potentiel hydrique (ψ_f) est plus négatif. Ainsi, de la sève passe des vaisseaux vers les cellules voisines et le ménisque s'enfonce dans la tige (figure m.13 (b)). La mesure consiste, à partir d'une bouteille d'azote ou d'air comprimé (figure m.13 (a)), à augmenter la pression (P_c) dans la chambre jusqu'à ce

que le ménisque réapparaisse au niveau de la coupure (on fait ressortir l'eau des cellules) et reste stable et quasiment plat (*figure m.13 (c) et (d)*), ce que l'on peut visualiser à l'aide d'une loupe (*figure m.13 (a)*). La pression P_c correspondante est égale, au signe près, à ce potentiel hydrique moyen (ψ_f) de la feuille en place et donc aussi à la tension moyenne de la sève présente dans les vaisseaux du rameau ($P_c = -\psi_f$), si on considère que le potentiel de la feuille est le même en tout point.

En 1991, Améglio a montré, chez le noyer, que la différence entre le potentiel hydrique d'une feuille et celui de sa foliole terminale est faible ($\pm 0,05$ MPa) (Améglio, 1991). Pour limiter la perte de matériel végétal des arbres, nous nous sommes donc limités au prélèvement des folioles terminales des feuilles à mesurer.

Afin de limiter les pertes en eau par transpiration, la foliole terminale d'une feuille est placée dans un petit sac plastique fermé par un lien souple et installé dans la chambre de pression. Dès que la sève affleure, on note la pression (P_c) indiquée par le manomètre.

Le potentiel hydrique foliaire de base (en MPa) (ψ_{fb}) se mesure sur une plante qui ne transpire pas ou très peu en fin de nuit (vers 5 heures du matin en été). La plante a reconstitué ses réserves en eau durant toute la nuit. On considère alors que la tension de sève, mesurée au niveau foliaire, est en équilibre avec le potentiel hydrique du sol. Cette mesure renseigne donc directement sur les disponibilités en eau du sol et fournit une information pertinente sur l'état hydrique dans lequel se trouve le végétal. Cette mesure a été faite une fois par semaine.

Pour mesurer le potentiel hydrique minimal du xylème (en MPa) (ψ_{min}), nous avons utilisé la méthode classique (Begg et Turner, 1970 ; Garnier, 1985) qui consiste à envelopper, au moins 2 heures avant le prélèvement, le foliole terminal dans un sac plastique étanche et de couvrir l'ensemble d'une feuille d'aluminium. Le potentiel hydrique de la feuille s'équilibre alors avec le potentiel du xylème à son point d'insertion sur la branche. La mesure de ψ_{min} se fait au midi solaire et permet de connaître la valeur minimale du potentiel hydrique atteint par la plante au cours de la journée. La mesure de ψ_{min} est réalisée une fois par semaine, le même jour que la mesure du ψ_{fb} .

2.1.2 Mesure de la transpiration relative par pesée journalière

La transpiration des arbres en stress hydrique (S) et témoins (C) a été déterminée par pesée du dispositif « arbre + conteneur + support » (*figure m.3*). Une balance de type Mettler

ID1 Multirange a été utilisée. La mesure est réalisée tous les jours, à 9h, pendant la durée du traitement et est poursuivie, après stress, pour suivre la récupération de la transpiration. La transpiration relative a été évaluée selon la formule suivante :

$$Tr_j(S_i) = \frac{T_j(S_i)}{\frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n (T_j(C_i))} \times I_i, \text{ où :}$$

- $Tr_j(S_i)$ est la transpiration relative du jour j de l'arbre stressé i (S_i),
- $T_j(S_i(\text{ou } C_i)) = P_j(S_i(\text{ou } C_i)) - P_{j-1}(S_i(\text{ou } C_i))$ où,
 - $T_j(S_i(\text{ou } C_i))$ est la transpiration du jour j (en kg) de l'arbre stressé i (S_i) (ou de l'arbre control i (C_i)),
 - $P_{j-1}(S_i(\text{ou } C_i))$ et $P_j(S_i(\text{ou } C_i))$ sont les poids (en kg) du dispositif « arbre + conteneur + support » du jour $j-1$ et j , respectivement,
- n est le nombre d'arbres (ici, $n = 6$ pour les arbres témoins),
- $I_i = \frac{\sum_{j=2}^5 (\frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n (T_j(C_i)))}{\sum_{j=2}^5 (T_j(S_i))}$ est l'indice de transpiration de l'arbre S_i par rapport aux arbres C_i avant le début du stress hydrique (ici, l'indice a été calculé sur 4 jours de $j=2$ à $j=5$).

2.2 Mesures de croissance

Le but de ces mesures a été de décrire la croissance des arbres et de mettre en évidence des différences dans cette croissance selon la période d'application et/ou les traitements.

2.2.1 Mesure de la croissance des pousses néoformées

La croissance en longueur (en cm) des nouvelles pousses a été mesurée au mètre ruban (de la base au sommet), celle en diamètre (en mm) au pied à coulisse (à la base du rameau). Pour chaque individu mesuré, trois pousses ont été sélectionnées au hasard. Pour la première campagne d'expérimentation (2004-2005), les mesures de croissance ont été réalisées sur 6 arbres de chaque espèce. Pour la campagne de 2005-2006, elles ont été effectuées sur 4 arbres par traitement. Ces mesures ont été réalisées hebdomadairement.

2.2.2 Mesure de la croissance du tronc

La croissance du tronc a été suivie en continue par des microcapteurs de déplacement de type LVDT.

En 2004-2005, pour les conditionnements T, O1, O2, D1, D2, S1 et S2, 3 arbres par traitement ont été équipés de microcapteurs de déplacement. A cause du nombre limité de LVDT mis à notre disposition, les noyers D3 n'ont pu être suivis. Les LVDT sont de marque SOLARTRON (SOLARTRON Metrology, Angleterre). Ils comprennent un corps et une aiguille (ou tige) dont l'extrémité est un noyau de fer doux qui, par déplacement à l'intérieur des bobinages du corps, modifie l'induction du champ électrique. Chaque déplacement de la tige correspond à une variation de la tension à la sortie du capteur. L'autre extrémité de la tige est, à la fois, collée et appliquée sur l'organe à mesurer. Le corps du capteur est solidaire du porte-capteur, dont le rôle est de maintenir une équidistance stricte entre le capteur et la base de référence, sans blesser ni perturber la croissance du végétal. Le support assure au capteur la stabilité nécessaire à sa grande précision. Les tiges du porte-capteur sont en INVAR (alliage Fer-Nickel) dont le coefficient de dilatation est très faible. La tension de sortie du capteur (en mV) est enregistrée par une centrale d'acquisition de type Delta-T-Logger (Delta-T Devices Ltd, Angleterre).

En 2005-2006, 3 arbres par traitement (D1, T, G, N1, N2 et N3) ont été équipés de microcapteurs LVDT.

Deux centrales d'acquisition de type Delta-T-Logger (Delta-T Devices Ltd, Angleterre) ont été utilisées pour l'acquisition des données de croissance. Elles peuvent gérer chacune au maximum les données de 60 capteurs avec des caractéristiques d'enregistrements de données (*tableau m.3*).

Tableau m.3 : Caractéristiques des enregistrements des données LVDT.

Période	Temps entre deux scrutations	Temps entre deux compressions (moyenne)
Estivale	1 min	10 min
Hivernale	1 min	5 min

Le traitement des données se fait ensuite par ordinateur sous Excel. Les tensions mesurées sont converties en unité de longueur selon la formule suivante :

$$\text{diamètre } (\mu\text{m}) = \frac{\text{déplacement (mV)} \times 1000}{\text{voltage (V)} \times \text{coefficient du capteur (mV.V}^{-1}.\text{mm}^{-1})}$$

2.2.3 Suivi de la surface foliaire des arbres

Durant la défoliation, en 2004-2005, la surface foliaire (SF, en cm^2) des noyers a été mesurée au planimètre (Li 3000 A, Li.Cor inc., U.S.A.), puis le poids sec (48h à 65°C) a été déterminé. En 2005-2006, pour la défoliation de type 1, elle a été estimée à partir du poids sec (PS) des feuilles selon la formule suivante :

- $\text{SF}_{\text{D1}} (\text{en cm}^2) = 116,95 (\text{en cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}) \times \text{PS} (\text{en g})$ ($r^2 = 0,91$, $n = 6$).

Après la défoliation totale, la surface foliaire a été estimée à l'aide du poids sec des feuilles selon les équations suivantes, établies à partir d'une fraction de feuilles :

- Témoin : $\text{SF}_{\text{T}} = 80,78 \times \text{PS}$ ($r^2 = 0,999$, $n = 4$),
- Défoliation de type 1 : $\text{SF}_{\text{D1final}} = 126,11 \times \text{PS}$ ($r^2 = 0,977$, $n = 5$),
- Annélation : $\text{SF}_{\text{G}} = 62,193 \times \text{PS}$ ($r^2 = 0,993$, $n = 5$),
- Nutrition 1 : $\text{SF}_{\text{N1}} = 97,17 \times \text{PS}$ ($r^2 = 0,999$, $n = 4$),
- Nutrition 2 : $\text{SF}_{\text{N2}} = 90,507 \times \text{PS}$ ($r^2 = 0,998$, $n = 5$),
- Nutrition 3 : $\text{SF}_{\text{N3}} = 86,265 \times \text{PS}$ ($r^2 = 0,999$, $n = 5$).

Sur tous les noyers, en 2004-2005, la surface foliaire a été évaluée par le produit de la longueur (de l'attache des dernières folioles au sommet) (L en cm) avec la largeur maximale (l en cm) de la feuille (*figure m.14*) et en utilisant les formules ci-dessous :

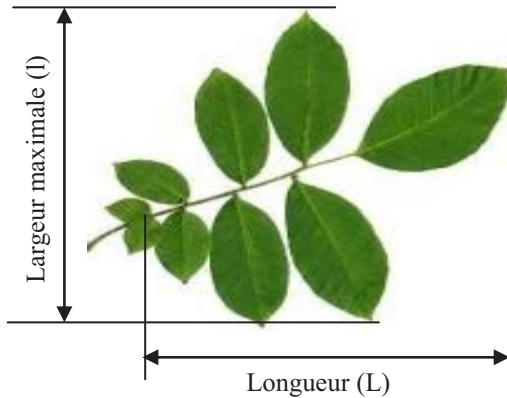
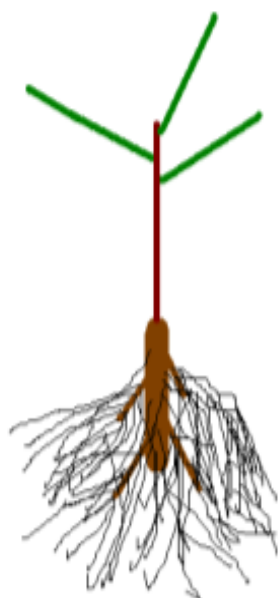


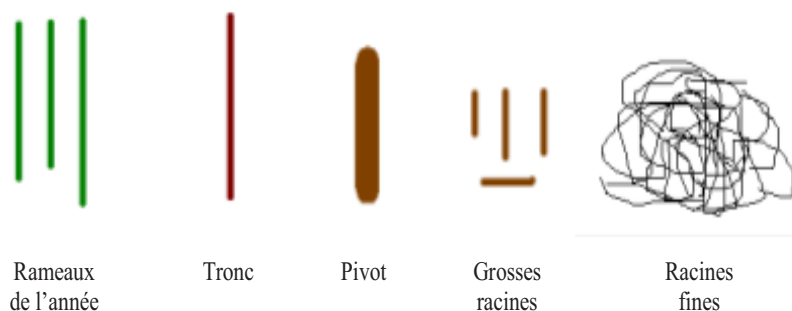
Figure m.14 : Représentation de la prise de mesure de la longueur et de la largeur de la feuille.

- Défoliation 1 : $\text{SF}_{\text{D1}} = 0,314 (L \times l) + 3,978$ ($r^2 = 0,84$, $n = 318$) (1),
- Défoliation 2 : $\text{SF}_{\text{D2}} = 0,305 (L \times l) + 2,046$ ($r^2 = 0,92$, $n = 285$) (2),
- Défoliation 3 et Témoin: $\text{SF}_{\text{D3 et T}} = 0,333 (L \times l) - 4,348$ ($r^2 = 0,94$, $n = 143$) (3),
- Ombrage 1 : $\text{SF}_{\text{O1}} = 0,311 (L \times l) - 6,127$ ($r^2 = 0,91$, $n = 18$) (4),
- Ombrage 2 : $\text{SF}_{\text{O2}} = 0,299 (L \times l) - 0,773$ ($r^2 = 0,95$, $n = 11$) (5),
- Sécheresse 1 : $\text{SF}_{\text{S1}} = 0,304 (L \times l) - 9,003$ ($r^2 = 0,96$, $n = 35$) (6),

► **étape n°1 : Les arbres sont dépotés. Les racines sont lavées à l'eau du robinet.**

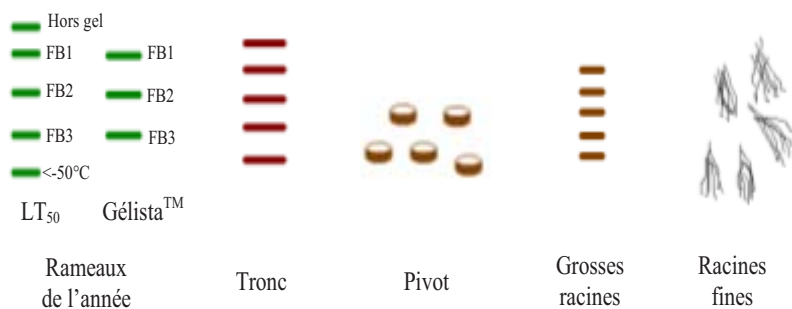


► **étape n°2 : Les organes sont individualisés et mesurés**



En 2005-2006, des prélèvements sont réalisés à l'étape 1 sur les rameaux, le pivot et les racines fines pour une analyse histologique avant gel et pour la microcalorimétrie.

► **étape n°3 : Echantillonnage destiné aux tests de résistance au gel**



En 2005-2006, après le cycle de gel/dégel des échantillons de l'étape n°3, un prélèvement est réalisé sur le rameau, le pivot et les racines fines pour une analyse histologique après gel

► **étape n°4 : Echantillonnage destiné aux dosages glucidiques**

« Le reste de chaque organe est réservé aux dosages glucidiques »

Figure m.15 : Echantillonnage de l'arbre.

Pour le traitement Sécheresse 2, la surface foliaire sur les arbres a été établie par le nombre de feuilles perdues pendant le stress.

- Sécheresse 2 : $SF_{S2} = SF \text{ estimée avant stress} - SF \text{ moyenne des feuilles perdues}$ (7)
(SF moyenne d'une feuille = $154,6 \text{ cm}^2 (\pm 6,9 ; n = 143)$).

On a pu ensuite recalculer la surface foliaire à chaque instant de la saison à partir des mesures de $L \times l$ déterminées régulièrement. Pour la période avant le début d'un traitement, l'équation (3) est utilisée pour déterminer la surface foliaire.

En 2005-2006, la surface foliaire a été estimée à partir du nombre de feuilles (NF) sur les arbres selon les formules suivantes :

- Témoin : $SF_T = 252,16 \times NF - 537,8$ ($r^2 = 0,91$, $n = 4$),
- Défoliation : $SF_{D1} = 203,55 \times NF + 7,56$ ($r^2 = 0,76$, $n = 6$),
- Annélation : $SF_G = 244,5 \times NF + 635,72$ ($r^2 = 0,95$, $n = 5$),
- Nutrition 1 : $SF_{N1} = 187,92 \times NF + 312,32$ ($r^2 = 0,99$, $n = 4$),
- Nutrition 2 : $SF_{N2} = 161,87 \times NF + 95,97$ ($r^2 = 0,83$, $n = 5$),
- Nutrition 3 : $SF_{N3} = 256 \times NF + 781,91$ ($r^2 = 0,95$, $n = 5$).

2.2.4 Suivi de la surface foliaire des arbres en plein champ (année 2005)

En 2005, la surface foliaire est estimée par la formule suivante :

- $SF = NF \times SF_{\text{moy}}$ ($165,88 \text{ cm}^2$, $n = 47$).

Elle utilise la surface foliaire moyenne (SF_{moy} en cm^2) d'une feuille et le nombre de feuilles (NF) présentes sur les arbres.

La surface foliaire des feuilles éliminées lors de la défoliation au cours de la période d'expérimentation a été évaluée à partir du poids sec des feuilles :

- $SF_{D1} = 116,95 \times PS$ (en g) ($r^2 = 0,91$, $n = 6$)

2.3 Echantillonnage hivernale des noyers en conteneur

Afin d'avoir un aperçu des conséquences des différents conditionnements sur la morphologie des arbres, la mise en réserve du carbone et sur la résistance au gel des différents organes des arbres, nous avons réalisé un certain nombre d'échantillonnages. Les noyers en conteneur sont dépotés et les racines sont lavées à l'eau du robinet (*figure m.15*).

Nous avons ensuite réalisé les mesures suivantes :

Tableau m.4 : Mesures réalisées (x) sur les organes des arbres en conteneur.

Mesures \ Organe	Racines fines	Grosses racines	Pivot	Tronc	Rameau
Poids frais (<i>en g</i>)	x	x	x	x	x
Nombre		x			
Longueur de l'organe (de la base au sommet, <i>en cm</i>)			x	x	x
Diamètre minimal (extrémité inférieure) (<i>en mm</i>)		x	x		
Diamètre maximal (<i>en mm</i>)	x	x	x		
Diamètre au collet (<i>en mm</i>)			x		
Diamètre à la base (<i>en mm</i>)				x	x
Diamètre au sommet (<i>en mm</i>)				x	x
Longueur des entre-nœuds (<i>en cm</i>)					x

Les grosses racines sont les racines dont le diamètre est supérieur à 2 mm ; les racines fines sont celles dont le diamètre est inférieur ou égal à 2 mm. Ce type d'échantillonnage a été réalisé seulement sur le noyer. Une partie des organes est réservée à l'évaluation de la résistance au gel, une autre est destinée aux dosages des glucides. En 2005-2006, des prélèvements ont également été réalisés pour l'histologie (*figure m.16*) et la microcalorimétrie différentielle. Les différentes mesures biométriques (*tableau m.4*) ont été entreprises sur ces organes afin de pouvoir réaliser, par la suite, une description précise des différences de développement entre les traitements.

2.4 Mise en évidence de la structure cellulaire et de l'amidon

La technique histologique, décrite ci-dessous, a été utilisée afin d'observer les changements structuraux qui pourraient se produire après l'application des différents conditionnements. De plus, elle nous permet de visualiser l'emplacement des grains d'amidon.

2.4.1 Echantillonnage

Les coupes histologiques ont été réalisées sur les rameaux, le pivot et les racines fines des noyers en conteneur en 2005-2006. Le prélèvement des échantillons s'est déroulé avant et après gel, sur les échantillons destinés au test LT₅₀ (*figure m.15*). Les prélèvements n'ont été réalisés que sur certains conditionnements (D1, G et N1) et pour les témoins (N3 et T). Nous

avons choisi ces conditionnements car ce sont les traitements les plus sévères de leur catégorie. Pour chaque traitement, les prélèvements destinés à l'histologie ont été répétés sur 3 individus.

Pour les rameaux, deux rondelles de 0,5 cm d'épaisseur en moyenne sont découpées. Ensuite, elles sont fractionnées en quarts (*figure m.16 (a)*). Pour le pivot (*figure m.16 (b)*), des tranches de 0,5 cm de long environ ont été choisies au hasard dans toute la longueur de l'organe. 3 portions de 0,2 cm sont ensuite découpées (*figure m.16 (b)*). Les racines fines de 2 mm de diamètre environ ont été fractionnées en petits morceaux de 1 cm de longueur (*figure m.16 (c)*).

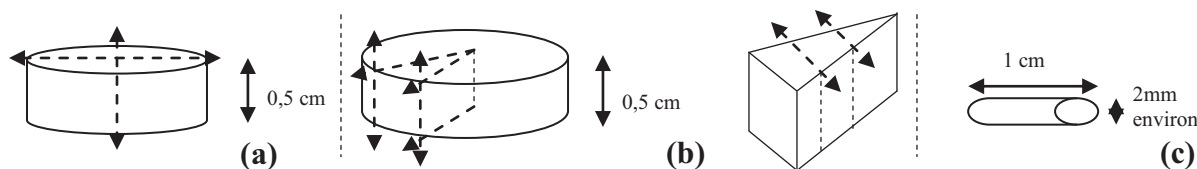


Figure m.16 : Echantillonnage des organes pour l'histologie. (a) le rameau, (b) le pivot et (c) la racine fine (les flèches en pointillées indiquent des sections).

2.4.2 Inclusion en résine LR White, coloration et observation

Après échantillonnage, la fixation se fait dans une solution de FAA (formaldéhyde à 3,7%, éthanol à 50% et acide acétique à 5%) à 4°C et sous vide au départ. Puis, le vide est 'cassé' et les échantillons sont fixés en présence de FAA neuf durant 5 à 6 heures à 4°C. Après déshydratation dans des bains successifs d'éthanol à 4°C (30 min dans l'éthanol 50%, 30 min dans l'éthanol à 70%, 30 min dans l'éthanol à 80%, 30 min dans l'éthanol à 95% puis 2 fois 30 min dans l'éthanol à 100%, et enfin une nuit dans l'éthanol à 100%) et imprégnation dans des bains successifs en résine LR White (Medium, Sigma, France) à 4°C (2 fois 15 minutes dans une solution de « $\frac{2}{3}$ éthanol 100% : $\frac{1}{3}$ résine », 15 minutes dans une solution de « $\frac{1}{2}$ éthanol 100% : $\frac{1}{2}$ résine », 15 minutes dans une solution de « $\frac{1}{3}$ éthanol à 100% : $\frac{2}{3}$ résine », puis 1 heure dans une solution de résine LR White pure, et enfin une nuit dans la résine LR White pure renouvelée), les échantillons sont inclus dans la résine LR White pure. La polymérisation se fait à 55°C pendant au moins 24 heures.

L'inclusion en résine acrylique de type LR White permet de réaliser des coupes fines sérielles transversales d'environ 2 μ m d'épaisseur à l'ultramicrotome (Reichert, Allemagne).

Les coupes sont ensuite déposées sur lames dans une goutte d'eau distillée et placées dans une étuve à 55°C pour le séchage avant leur coloration.

La coloration PAS (Acide Périodique-Shiff) a été retenue car elle permet de colorer à la fois l'amidon (bleu marine), la cellulose, l'hémicellulose et les composés pectiques (rose). Ainsi, le contour des cellules peut être visualisé sans avoir besoin de faire une double coloration.

Les polysaccharides tel que l'amidon peuvent être mis en évidence par la réaction à l'Acide Périodique-Shiff (ou réaction PAS). A température ambiante, l'acide périodique oxyde les groupements glycols des polysaccharides. Les groupements aldéhydiques ainsi libérés sont révélés par le réactif de Shiff (Locquin et Langeron, 1978).

L'ensemble des étapes de coloration a été réalisé à l'obscurité. Les coupes sur lames ont été incubées 10 minutes dans l'acide périodique 1% (Acros organics, Belgique). Ensuite, elles ont été rincées pendant 4 minutes dans l'eau distillée. Puis, elles sont colorées 15 minutes au réactif de Shiff (Merck, Allemagne). A la fin des 15 minutes, elles sont rincées 4 minutes dans une solution de métabisulfite de sodium à 1% (Merck, Allemagne), puis rincées 2 fois dans l'eau distillée et séchées dans l'étuve à 55°C. Les coupes sont recouvertes d'Eukitt (Kindler GmbH & Co., Allemagne), puis d'une lamelle. Les observations ont été réalisées au microscope optique (Zeiss Axioplan 2) équipé d'une caméra numérique AxioCam HR (Zeiss, Allemagne). Le logiciel AxioVision permet l'acquisition et le traitement des images.

2.5 Dosage des glucides

Le dosage des sucres solubles (glucose, fructose et saccharose) a été réalisé par H.P.L.C. L'amidon a été quantifié par dosage enzymatique.

2.5.1 Echantillonnage

2.5.1.1 Arbres en conteneur

En 2004-2005, l'échantillonnage a été fait à l'automne et en hiver. En 2005-2006, il a été réalisé à l'automne, en hiver et au printemps. Une partie des différents organes a été prélevée pour les dosages glucidiques. Le dosage des glucides a été réalisé sur les rameaux, le tronc, le pivot, les grosses racines et sur les racines fines. Après avoir été pesés (poids frais : PF, en g), les échantillons ont été immédiatement congelés à l'azote liquide. Ils ont été conservés à -20°C, en attendant d'être lyophilisés (USIFROID, France). Après lyophilisation,

ils ont été pesés (poids sec : PS, en g) (balance de précision : Mettler PM 6100, max : 6100 g, min : 0,5 g, $\pm 0,1$ g) et broyés. Le broyage se déroule en deux étapes. Tout d'abord, les échantillons sont broyés grossièrement à l'aide d'un broyeur à bille (FOSS TECATOR, Suisse). Puis, le grain de la poudre est affiné par un broyeur à couteaux (IKA Labortechnik, IKA 10, Janke & Kunkel, Allemagne). A partir de ces deux pesées, nous avons pu calculer l'humidité pondérale (Hp en g.g^{-1}) des organes d'après la formule suivante :

$$Hp = (PF - PS) / PS .$$

2.5.1.2 Arbres en conditions naturelles

Pour les arbres en plein champ (2004-2005 et 2005-2006), l'échantillonnage a été effectué sur les rameaux de l'année (*figure m.17*). Des tronçons de 7 cm sont découpés au sécateur tout le long du rameau. 1 cm de part et d'autre des tronçons sont conservés pour le dosage des glucides dans des barquettes en aluminium. Les morceaux sont pesés (poids frais) et refroidis immédiatement à l'azote liquide et conservés à -20°C . Ils sont ensuite lyophilisés (USIFROID, France) et pesés une seconde fois (poids sec). Enfin, ils sont réduits en poudre grossière à l'aide d'un broyeur à couteaux (IKA Labortechnik, IKA 10, Janke & kunkel, Allemagne). Pour réduire le grain de la poudre, les échantillons sont broyés une nouvelle fois à l'aide d'un broyeur à bille (FOSS TECATOR, Suisse).

Les différentes pesées réalisées nous permettent d'évaluer l'humidité pondérale des échantillons (*cf.* § 2.5.1.1).

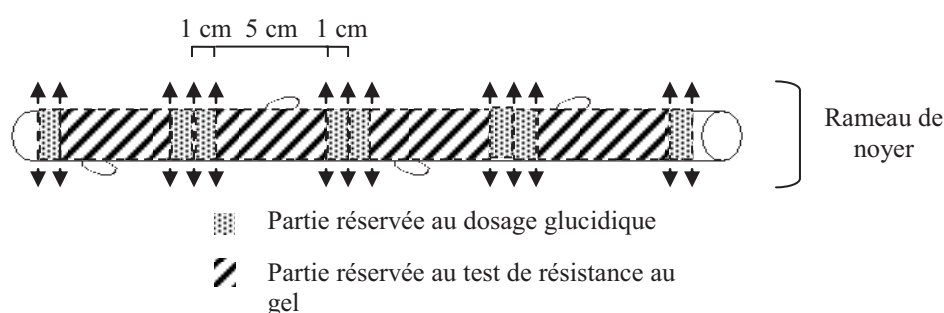


Figure m.17 : Echantillonnage des rameaux pour les dosages glucidiques et le test de résistance au gel.

La prise d'essai pour le dosage glucidique est de 50 mg pour les rameaux, le tronc et les racines fines. Elle est de 20 mg pour les grosses racines et le pivot. La prise d'essai est réduite pour ces derniers organes car ils sont très riches en glucides.

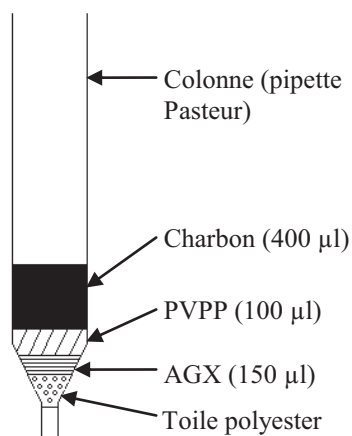


Figure m.18 : Cartouche de filtration

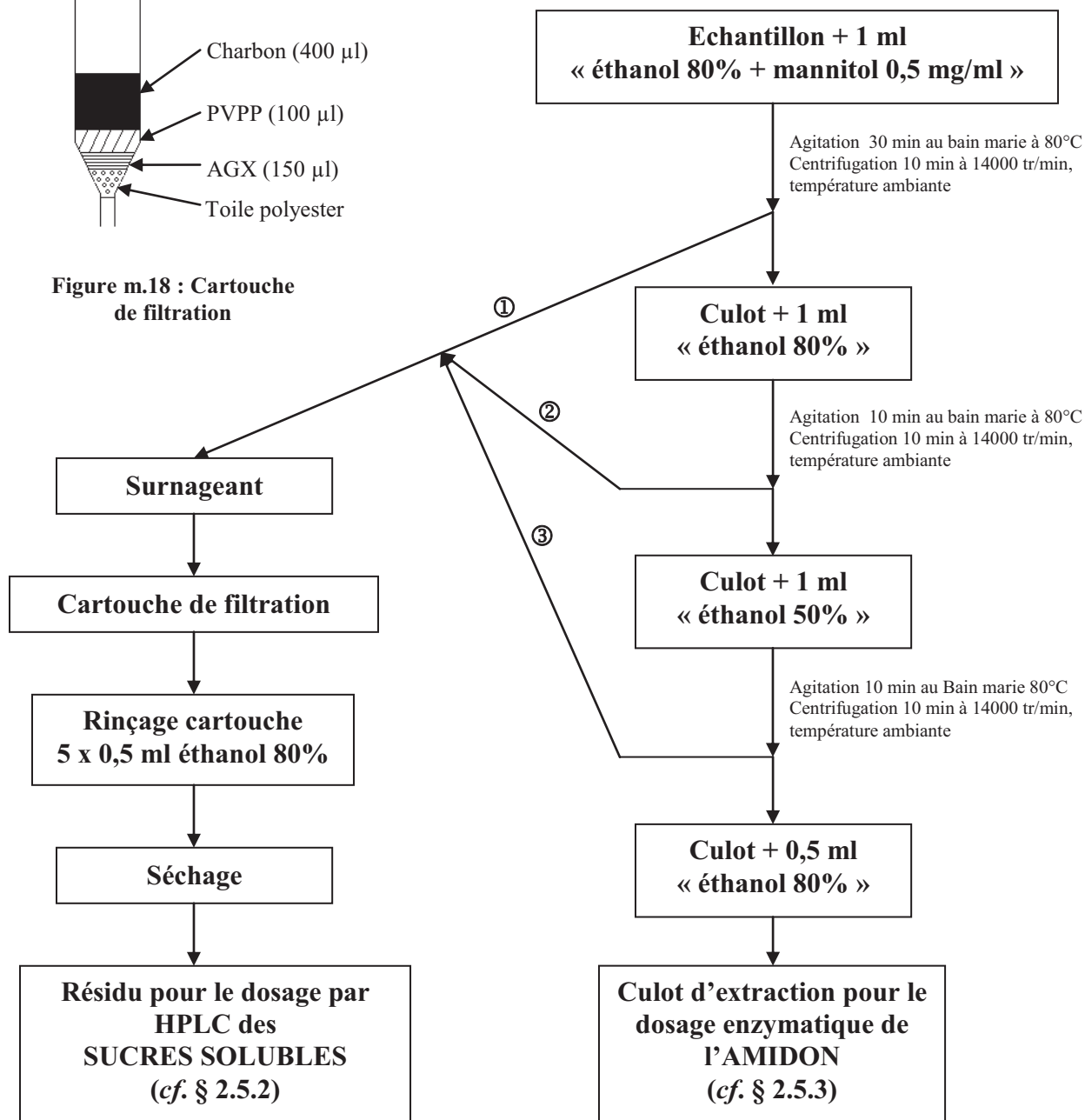


Figure m.19 : Protocole d'extraction des glucides solubles.

2.5.2 Dosage des sucres solubles par HPLC

L'extraction des sucres solubles est réalisée d'après la méthode développée par Moing et Gaudillère (1992). Cette extraction utilise des cartouches de filtration (*figure m.18*) et des rinçages successifs d'éthanol de teneurs variables (*figure m.19*). Les solutions utilisées sont décrites dans l'*annexe A1*.

Les extraits alcooliques séchés, destinés au dosage des sucres solubles (glucose, fructose et saccharose), sont repris dans 500 µl d'eau ultrapure. Ils sont dosés directement par H.P.L.C. (Gilson 715 H.P.L.C., réfractomètre RI 2000). La température du four est ajustée à 85°C. Une colonne échangeuse de cations de type Aminex (Bio-Rad, Fast Carbohydrate, 9µm, 100 x 7.8 mm) est utilisée. Elle est éluée à l'eau ultrapure (phase mobile) à un débit de 1 ml.min⁻¹. Le mannitol est employé comme standard interne. Il est inclus dans l'échantillon pendant la phase d'extraction. Le saccharose, le glucose et le fructose sont identifiés par leur temps de rétention. Le temps d'élution des différents sucres étudiés est : ~10,5 minutes pour le saccharose, ~12,7 minutes pour le glucose et ~18,17 minutes pour le fructose.

Pour chaque sucre, une gamme étalon est réalisée afin de construire la courbe "**concentration (mg.mL⁻¹) = f(aire du pic)**". La pente de la droite des moindres carrés (a_x) servira à l'évaluation de la teneur en glucides des échantillons. De plus, l'étalon interne permet de corriger les problèmes intervenus lors de l'extraction. La formule suivante permet ensuite de calculer la teneur des différents sucres :

$$[\text{glucide}] = \frac{\text{"aire du pic"} \times a_x}{M} \times \frac{[\text{mannitol}]_{\text{vial}}}{\text{"aire du pic"} \times a_{\text{mannitol}}},$$

où a_x est la pente de la droite des moindres carrés du composé x ,

$[\text{mannitol}]_{\text{vial}}$ est la teneur théorique du mannitol dans le vial (1 mg.ml⁻¹),

M est la masse de la prise d'essai de l'échantillon (en g),

"**aire du pic**" $\times a_{\text{mannitol}}$ est la teneur en mg.ml⁻¹ correspondant à l'aire du pic du mannitol du chromatogramme.

Les quantités en sucres solubles ont été calculées à partir de la formule suivante :

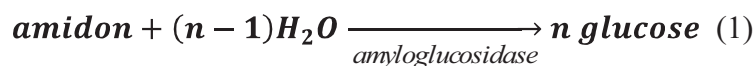
$$\text{quantité en sucres solubles} = \frac{[\text{sucres solubles}] \times (pf / (Hp + 1))}{1000}, \text{ où :}$$

pf est le poids frais de l'organe (en g),

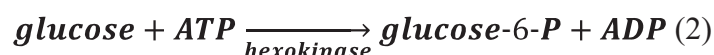
H_p est l'humidité pondérale de l'organe (g.g^{-1}).

2.5.3 Dosage enzymatique de l'amidon

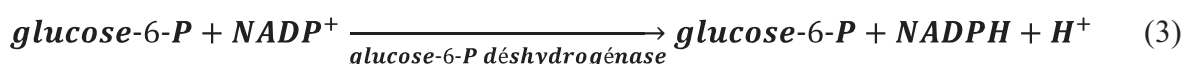
L'amidon extrait est transformé en glucose grâce à une amyloglucosidase (Boehringer, 1984).



A pH 7,6, l'enzyme hexokinase (*annexe A1*) catalyse la réaction de phosphorylation suivante :



En présence de l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase (*annexe A1*), le glucose-6-phosphate formé est oxydé par le NADP^+ en gluconate-6-phosphate avec formation de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) :



La réaction est stœchiométrique. La concentration en $\text{NADPH} + \text{H}^+$ formé est déterminée par la mesure au spectrophotomètre à 340 nm. On obtient alors une quantité d'amidon exprimée en équivalent glucose.

Le culot obtenu après l'extraction des sucres solubles (*cf.* § 2.5.2) est séché au Spread Vac, pesé (P_1 en g) puis repris dans 1 ml de NaOH 0,02 N. L'ensemble est alors incubé 1 heure au bain-marie bouillant (90°C) de façon à détruire les parois cellulaires et permettre la libération de l'amidon des amyloplastes.

L'amidon extrait (1 ml d'extrait d'amidon) est hydrolysé en glucose par 100 μl d'amyloglucosidase (150U/ml) dans un tampon citrate 0,32 M à pH 4,2 à 52°C pendant 1h. Une centrifugation de 10 min à 14000 tour/min permet de sédimenter les débris cellulaires. 12 μl de surnagent sont prélevés pour le dosage et mis en présence de 180 μl de « tampon réactionnel » (*annexe A1*). Une première lecture de la densité optique (Power Wave 200, microplate scanning spectrophotometer, BioTek Instruments) à 340 nm est réalisée (DO_1). 10 μl du mélange enzymatique hexokinase (4,2U), glucose-6-P déshydrogénase (2U) dans un tampon sulfate d'ammonium 2,5M à pH 6 sont alors ajoutés (Kunst *et al.*, 1984). L'incubation se fait sous agitation pendant 40 minutes à 20°C . Une seconde lecture de la densité optique

(DO₂) est effectuée à 340 nm. Une droite d'étalonnage de glucose linéaire (de 0 g.L⁻¹ à 1,5 g.L⁻¹) est réalisée en parallèle.

Les teneurs en amidon (exprimées en mg.g⁻¹ de matière sèche) se calculent à partir de l'équation suivante :

$$[AMIDON] = \frac{\Delta DO \times a_2 \times V}{M},$$

où :

ΔDO est la différence de densité optique avant et après réaction enzymatique (DO₂-DO₁),

a_2 est la pente de la courbe d'étalonnage,

V est le volume de l'échantillon avant dosage (en ml),

M est la masse de la prise d'essai (en g).

L'ensemble des calculs de teneurs est réalisé sous Excel.

Les quantités en amidon ont été calculées à partir de la formule suivante :

$$\text{quantité en amidon} = \frac{[amidon] \times (pf / (Hp + 1))}{1000},$$

où :

pf est le poids frais de l'organe (en g),

Hp est l'humidité pondérale de l'organe (en g.g⁻¹).

2.6 Evaluation de la biomasse structurale des organes

La biomasse structurale (BS) des différents organes de l'arbre, exprimée en g, a été calculée de la manière suivante :

$$BS = \frac{PF}{(Hp+1)} - \text{quantité de GFSA},$$

où :

BS est la biomasse structurale (en g),

PF est le poids frais (en g),

Hp est l'humidité pondérale (en g.g⁻¹),

quantité de GFSA est la somme des quantités de GFS (glucose, fructose et saccharose) et d'amidon (en g).

2.7 Evaluation de la résistance au gel des arbres

2.7.1 Echantillonnage

Sur les arbres en conteneur, pour chaque organe, chaque arbre et chaque traitement, une fraction est réservée pour l'évaluation de la résistance au gel. La *figure m.16* montre l'échantillonnage des différents organes de l'arbre. Le nombre d'arbres à analyser étant important, les prélèvements se sont déroulés sur plusieurs jours. Les périodes de prélèvement furent les suivantes :

- Automne 2004 : du 11/10/2004 au 4/11/2004.
- Hiver 2004-2005 : du 24/01/2005 au 16/02/2005.
- Automne 2005 : du 5/10/2005 au 24/10/2005.
- Hiver 2005-2006 : du 18/01/2006 au 6/02/2006.

Test Gélista™

Le test Gélista™ se fait seulement sur les rameaux. 3 tronçons de 4 cm de long ont été prélevés aléatoirement sur l'ensemble du pool 'rameau' et par traitement.

Test LT50

Le test se fait sur les différents organes.

- Rameaux de l'année : Lors de la première année d'expérimentation et pour chaque traitement, 4 morceaux de 3 cm de long environ ont été affectés au test du LT₅₀. La deuxième année, un cinquième segment a été incorporé pour être conditionné à une température inférieure à -50°C.
- Tronc : Des segments de 4 cm environ ont été sélectionnés au hasard sur toute la longueur de l'organe.
- Pivot : Des rondelles de 3 cm de large ont été prélevées de manière aléatoire.
- Grosses racines : Des segments de 7 cm environ ont été choisis au hasard dans le pool des grosses racines.
- Racines fines : Pour les racines fines, une quantité suffisante pour réaliser le test est prélevée de manière aléatoire dans le pool de racines fines.

Pour les arbres en verger, des segments de 5 cm (*figure m.17*) sont employés pour évaluer la résistance au gel des arbres en conditions naturelles. En 2004-2005, le relevé fut mensuel. En 2005-2006, il y eut trois relevés par saison (Automne : les 10, 17 et 24 octobre 2005 ; Hiver : les 23 et 30 janvier 2006 et le 6 février 2006 ; Printemps : le 27 mars 2006 et les 3 et 5 avril 2006). Mais dans ce manuscrit, nous avons choisi de ne pas présenter les

données de printemps. Elles seront seulement utilisées pour la validation du modèle au chapitre II.

2.7.2 Traitement gel-dégel

2.7.2.1 Arbres en conteneur

Les échantillons récoltés lors du prélèvement sont placés dans des filets (*figure m.20*). Le refroidissement des compartiments des chambres est contrôlé par un bain-marie de type Huber Ministat (Huber Ministat cc et Huber Ministat cc3, Allemagne). Chaque chambre est programmée pour respecter une vitesse de descente en température de 5°C.h^{-1} qui correspond à une variation de température rapide mais compatible avec des situations enregistrées en conditions naturelles (Améglio, données non publiées). Les programmes de cycle de gel/dégel des chambres sont donnés en *annexe A2*. Des thermocouples cuivre-constantan sont installés à l'intérieur de la chambre, ainsi que sur les organes végétaux. Les températures sont enregistrées sur un Delta-T-Logger (*cf.* § 2.2.2). Les données sont scrutées toutes les minutes puis moyennées toutes les 5 minutes. Après un cycle de gel/dégel, les échantillons destinés au test LT_{50} sont sortis des chambres. Les segments destinés au test GélistaTM sont conservés et subissent en plus du programme n°1, le programme n°2 (*annexe A2*) ou plusieurs répétitions du programme n°1.

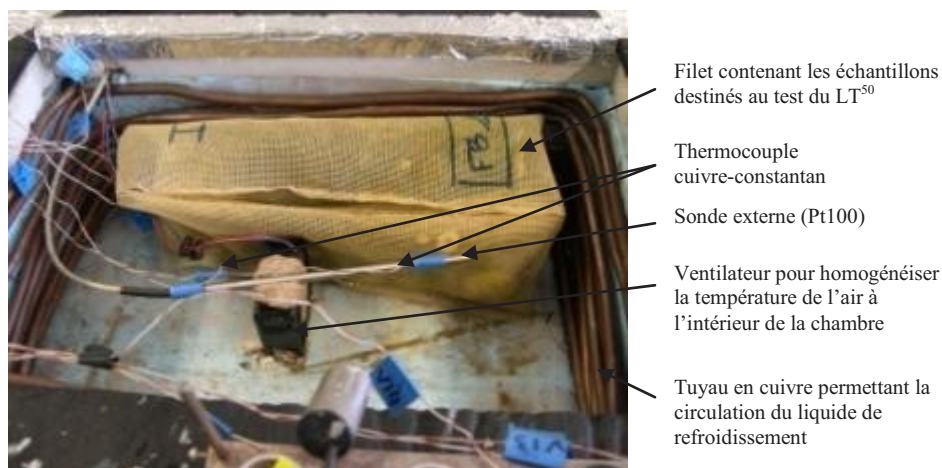


Figure m.20 : Intérieur d'une chambre de conditionnement.

2.7.2.2 Arbres en conditions naturelles

Les échantillons de rameaux sont emballés dans du papier imbibé d'eau. L'ensemble est enveloppé dans du papier d'aluminium et placé dans des thermos. Les

thermos permettent d'obtenir une vitesse de refroidissement voisine des 5°C.h^{-1} lorsque l'ensemble est placé dans un congélateur à -80°C . Une thermos contrôle est placée dans une chambre froide à $+5^{\circ}\text{C}$. Les cinq autres sont placées dans le congélateur à -80°C . Les thermos étaient équipés de thermocouples 'cuivre-constantan' pour suivre le refroidissement des échantillons.

Les températures de conditionnement sont :

- à l'automne et au printemps: $+5^{\circ}\text{C}$, -5°C , -10°C , -15°C , -20°C et $T^{\circ}\text{C} < -50^{\circ}\text{C}$,
- en hiver : $+5^{\circ}\text{C}$, $-7,5^{\circ}\text{C}$, -15°C , $-22,5^{\circ}\text{C}$, -30°C et $T^{\circ}\text{C} < -50^{\circ}\text{C}$.

La résistance au gel des arbres en conditions naturelles a été estimée seulement par la méthode du LT_{50} .

2.7.3 Test de fuite des électrolytes : LT_{50}

Cette méthode consiste à mesurer la conductivité électrique d'une solution d'eau ultra pure dans laquelle baigne un échantillon. Cette conductivité électrique est proportionnelle aux lyses cellulaires induites par les températures gélives. Le LT_{50} est un indice qui évalue la résistance au gel des végétaux. Il correspond à la température à laquelle 50% des cellules du matériel végétal analysé sont lysées par le gel.

Les échantillons sont redécoupés en petits morceaux. Ils sont introduits dans des tubes en verre (2,5 cm x 20 cm) contenant 15 ml de solution d'eau ultra pure (milliQ185). Ces tubes sont bouchés puis placés sur une table oscillante pour agitation (ST5, CAT, Allemagne), pendant 24 heures, à 5°C . Au bout de ces 24 heures, ils sont mis à température ambiante. Après que la température des tubes soit devenue égale à la température de la pièce, une première mesure de conductivité électrique (C_1) est prise à l'aide d'un conductimètre (Held Meter LF340, TetraCon[®] 325). Pour obtenir la conductivité maximale, les échantillons sont autoclavés pendant 25 minutes à 120°C (Systec 2540ML). Ensuite, les échantillons sont placés à température ambiante pour refroidissement. Une deuxième mesure de conductivité (C_2) est réalisée.

Dans la littérature, il existe deux méthodes pour évaluer la résistance au gel des échantillons (*figure m.21*) :

La première étape consiste à calculer un indice de mortalité (Flint *et al*, 1967 ; Pearce, 1980 ; Zhang et Willison, 1987) :

$$\text{Indice de mortalité} = 100 \times \frac{C_1}{C_2}$$

A partir de cet indice, Flint *et al* (1967) et Pearce (1980) ont proposé que l'endurcissement au gel pouvait être défini en terme de 50% de lyse cellulaire (*figure m.21, bleu*) :

$$\% \text{ de lyse cellulaire} = 100 \times \frac{\text{Indice de mortalité de } E_{T^\circ C} - \text{Indice de mortalité } C}{100 - \text{Indice de mortalité } C},$$

où :

C est le contrôle (échantillons conditionnés à $+5^\circ\text{C}$),

$E_{T^\circ C}$ est le matériel exposé à une température gélive.

Sutinen *et al*, (1992) utilisent directement la courbe « indice de mortalité en fonction de la température » (*figure m.21, rouge*). Pour eux, la température qui représente la résistance au gel est estimée à partir d'un pourcentage de lyse cellulaire maximal défini comme suit :

$$LT_{50} \text{ de Sutinen} = (R_1 + R_2)/2,$$

où :

R_1 est l'indice de mortalité pour une lyse occasionnée par le gel maximal,

R_2 est l'indice de mortalité lorsque le matériel végétal n'a pas subi de gel.

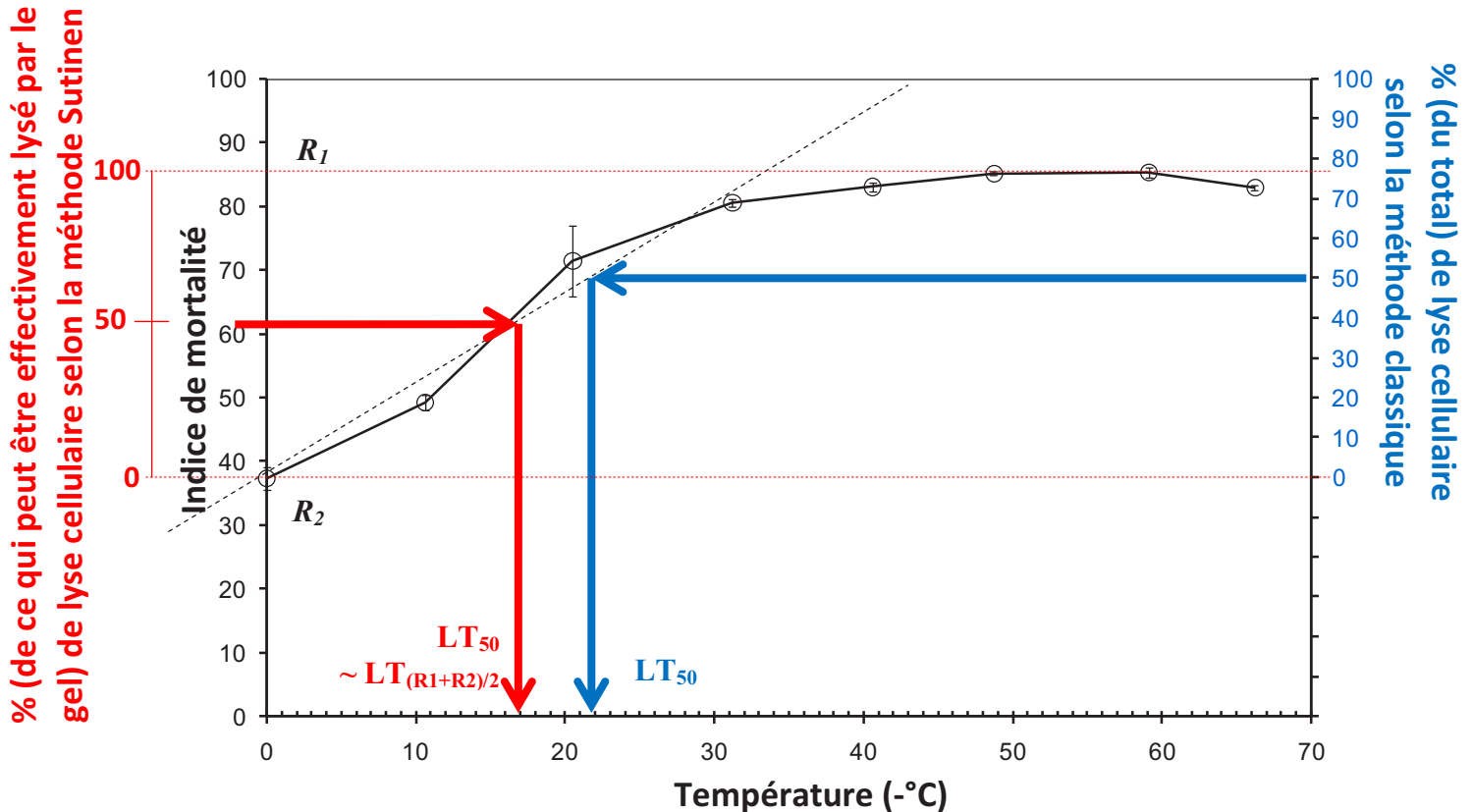


Figure m.21 : Estimation de la résistance au gel selon Zhang et Willison (1987) (en bleu) et Sutinen (1992) (en rouge).

2.7.4 Le test Gélista™

Le test Gélista™ (Améglio *et al*, 2001a ; Améglio *et al*, 2003) se base sur les propriétés suivantes : lors d'un cycle de gel/dégel, les organes d'un arbre, notamment les rameaux, montrent des variations de diamètre ; le gel extracellulaire entraîne une sortie d'eau de la cellule qui voit son volume diminuer et la cohésion entre les cellules induit une réduction du diamètre de l'organe ; lorsque la cellule n'est pas résistante au gel, une lyse cellulaire a lieu. Tout prend en glace et le diamètre de l'organe augmente.

Des fragments de rameaux d'un an de 5 cm sont utilisés pour le test Gélista™. Ils sont enveloppés de parafilm™ pour éviter les pertes en eau du rameau. Un thermocouple cuivre-constantan est placé sous le parafilm™ pour suivre la température de l'organe. Des capteurs LVDT (modèle DF 2,5 et DF 5, SOLARTRON Metrology, Massy, France) sont utilisés pour suivre les variations du diamètre de l'organe. L'aiguille du capteur est maintenue sur l'organe par de la silicone (*figure m.22*). Le dispositif est placé dans une chambre de conditionnement. Les variations du diamètre sont enregistrées par un Delta-T-Logger (Delta-T Devices Ltd, Angleterre). Les données sont scrutées toutes les minutes et moyennées toutes les 5 minutes. Pendant l'année de 2004-2005, les échantillons ont subi un cycle de gel/dégel (programme n°1), suivi d'un choc thermique (programme n°2 année 2004-2005). En 2005-2006, le cycle de gel/dégel est répété en boucle (programme n°1 + programme n°2).

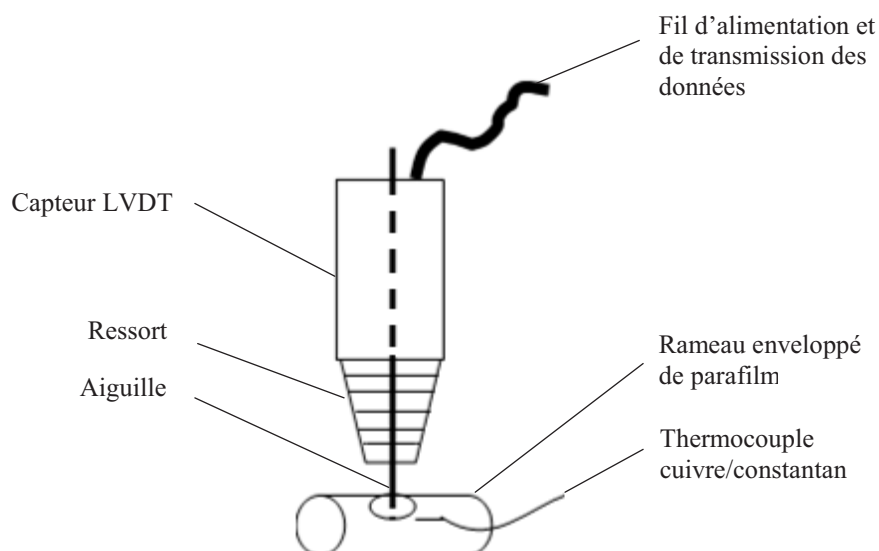
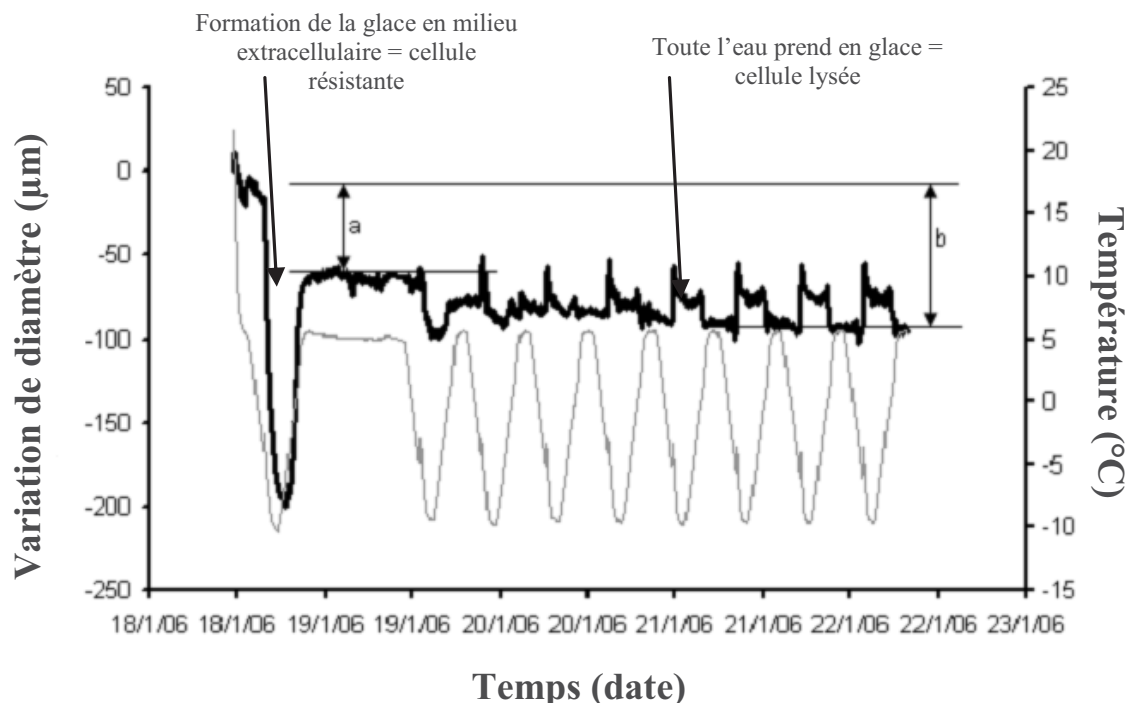


Figure m.22 : Schéma du dispositif du test Gélista™.

Le pourcentage de blessures causées par le gel est calculé en divisant la perte de diamètre après un cycle de gel/dégel (a) par la perte de diamètre maximal (b) (figure m.23).

Pour tester la résistance au gel de plantes entières, une chambre réfrigérée de 2 mètres de hauteur a été utilisée. La vitesse de refroidissement ou de réchauffement choisie est toujours la même (5°C.h^{-1}). Un seul cycle de gel/dégel ($-10^{\circ}\text{C}/+5^{\circ}\text{C}$) a été appliqué sur les arbres. Des thermocouples cuivre/constantan sont utilisés pour mesurer la température du tronc, des rameaux de l'année, de l'air de l'enceinte et du sol. Les variations de diamètre du tronc ont été suivies grâce à des capteurs LVDT. Des centrales d'acquisition de type Delta-T-Logger enregistrent les températures et les variations du diamètre. Les données sont scrutées toutes les minutes, puis moyennées toutes les 5 minutes. Les signes de dommages liés au gel sont détectés par les variations de diamètre et par observation des tissus (les tissus endommagés par le gel développent des tâches brunes ou jaunâtres) (Holubowcz *et al*, 1982 ; Ketchie et Kammereck, 1987 ; Embree et McRae, 1991). Les observations visuelles et les tests de reprise de croissance au printemps sont des méthodes qualitatives. Elles sont utilisées simplement pour contrôler la vraisemblance de la mesure du LT_{50} (LT_{50} déterminé par le test GélitaTM ou par les deux méthodes de la fuite d'électrolytes).



$\% \text{ de blessures} = 100 \times a/b$ (Améglio *et al*, 2001b ; Améglio *et al*, 2003),
avec : $a = \text{'diamètre initial'} - \text{'diamètre après 1 cycle'}$,
 $b = \text{'diamètre initiale'} - \text{'diamètre minimal'}$.

Figure m.23 : Exemple de courbe obtenue par le test GélitaTM sur rameau (courbe épaisse : diamètre de l'organe ; courbe fine : température de l'organe).

2.8 Formation de la glace dans le tissu végétal

2.8.1 Echantillonnage

Les mesures ont été réalisées sur les rameaux de l'année, le pivot et les racines fines des arbres en conteneur de 2005-2006. Les traitements choisis pour cette étude sont T, D1, G, N3, N2 et N1. L'échantillonnage a été réalisé au hasard et répété sur 3 arbres par traitement. La prise d'essai est de quelques dizaines de milligrammes.

2.8.2 Microcalorimétrie différentielle

La microcalorimétrie différentielle programmée (micro DSC VII, SETARAM) est une technique dans laquelle le flux de chaleur de l'échantillon est mesuré dans une atmosphère contrôlée. En pratique, on mesure la différence de flux de chaleur entre un creuset contenant l'échantillon végétal et un creuset de référence vide ou contenant un matériel thermiquement inerte.

Quelques dizaines de milligrammes d'échantillon sont pesés et introduits dans le creuset expérimental ; celui de référence est vide. Le cycle de gel/dégel (*tableau m5*), que subira l'échantillon, est programmé. Le logiciel SETARAM (version 1.54a, France) permet de piloter automatiquement le microcalorimètre. Les résultats sont fournis à la fin du cycle sous la forme d'une courbe de calorimétrie :

$$\text{dégagement de chaleur (en mW)} = f(\text{Température (en } ^\circ\text{C)}).$$

La température à laquelle se produit l'exotherme principale et la valeur de l'enthalpie (en J/g, la masse de l'échantillon ayant été précisée dans le programme au préalable) dégagée par la formation de la glace sont indiquées sur la courbe.

Tableau m5 : Détail du programme de refroidissement.

Donnée	1 ^{ère} descente	2 ^{ème} descente	remontée
Température	Début : 25°C Fin : 5°C	Début : 5°C Fin : 30°C	Début : 30°C Fin : 25°C
Vitesse	60°C/h	5°C/h	55°C/h
Durée	20 minutes	7 heures	1 heure

3 Analyses statistiques

3.1 Comparaison des moyennes

La comparaison des moyennes a été effectuée par une analyse de la variance (ANOVA) complétée du test non paramétrique de Mann et Whitney ou du test paramétrique de Tukey, au seuil de 5%. Les calculs ont été faits à l'aide du logiciel XLSTAT 7.5.2 sous Excel.

Le test de Mann et Whitney a été employé pour l'analyse statistique des effectifs réduits tels que :

- les teneurs en sucres solubles et en amidon,
- la biomasse,
- les LT_{50} ,
- les surfaces foliaires,
- les mesures de croissances (longueur et diamètre).

Le test de Tukey a été utilisé pour la comparaison des températures moyennes.

3.2 Régressions linéaires

Des régressions linéaires ont été utilisées pour mettre en évidence les relations entre une variable quantitative à expliquer et une ou plusieurs variables explicatives quantitatives. Pour chaque régression réalisée, l'équation de la droite de corrélation et le coefficient de détermination r^2 sont donnés. L'ensemble des calculs a été effectué à l'aide du logiciel XLSTAT 7.5.2 sous Excel 2003.

3.3 Analyse de la covariance (ANCOVA)

Des analyses de la covariance ont été réalisées pour mettre en évidence les relations entre une variable quantitative à expliquer et un groupe de variables explicatives mixtes (quantitatives et qualitatives). Sauf indication contraire, nous prenons en compte la somme des carrés des erreurs (SCE) de type III (décomposition indépendante de l'ordre d'entrée des variables). Les ANCOVA nous ont également permis de construire les différents modèles présentés dans ce travail de recherche. L'ensemble des calculs a été réalisé à l'aide du logiciel XLSTAT 7.5.2 sous Excel 2003.

3.4 Analyse statistique des modèles

Pour estimer la performance de la prédiction des différents modèles, deux variables statistiques ont été calculées : la racine carrée de la moyenne des erreurs carrées (RMSE) et

l'index de conformité (d). Pour valider un modèle, les données mesurées et simulées sont comparées en utilisant la droite $y = x$. Idéalement, les données simulées et mesurées doivent avoir une correspondance de 1:1.

Le RMSE est une valeur quantitative. Il quantifie l'erreur moyenne de simulation produite par le modèle (plus le RMSE est faible, meilleur est le modèle). Il a la même dimension que celle des valeurs mesurées. Le RMSE est calculé selon la formule suivante (Janssen et Heuberger, 1995) :

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - M_i)^2}{n}},$$

où S_i est la valeur simulée de l'échantillon i et M_i est la valeur mesurée de l'échantillon i . Pour la validation du modèle, le RMSE est nommé RMSEP (= racine carrée de la moyenne des erreurs carrées de la prédiction).

L'index de conformité (d) mesure le degré avec lequel la prédiction du modèle est conforme à la valeur mesurée (Willmott, 1982). Il est sans dimension. Il est considéré comme une donnée descriptive. La valeur de d est comprise entre 0 (aucune conformité de la valeur simulée avec la valeur mesurée) et 1 (conformité parfaite entre la valeur observée et celle mesurée). d est calculé selon la formule suivante (Willmott, 1982) :

$$d = 1 - \left[\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - M_i)^2}{\sum_{i=1}^n (|S'_i| + |M'_i|)^2} \right],$$

où S'_i est la différence entre S_i est la moyenne des valeurs mesurées et M'_i est la différence entre M_i est la moyenne des valeurs mesurées.

De plus, nous avons utilisé l'erreur absolue moyenne (MAE) et l'erreur absolue maximale (maxAE) :

$$MAE = \frac{\sum_{i=1}^n |S_i - M_i|}{n}$$

$$\max AE = \max_{i=1, \dots, n} (|S_i - M_i|)$$

Les calculs ont été réalisés sous Excel 2003.

Résultats – Discussions



**Chapitre I : Comparaison de méthodes d'évaluation de la
résistance au gel et adaptation du test de fuite des
électrolytes au Noyer commun (*Juglans regia* L.)**

Introduction

Les basses températures représentent, avec le stress salin et hydrique, une des plus importantes contraintes environnementales qui limitent la productivité et la répartition des plantes à la surface de la terre (Sakai et Larcher, 1987). Ceci est tout particulièrement vérifié lorsqu'on s'élève en altitude et lorsqu'on se rapproche des pôles (Gusta *et al*, 1983 ; Arris et Eagleson, 1989 ; Cavieres *et al*, 2000).

Les mécanismes permettant aux plantes de résister aux températures gélives appartiennent principalement à deux catégories : l'évitement et la tolérance à la formation de la glace (Levitt, 1978). Le coût énergétique de la tolérance au gel ne permet pas aux organismes d'être constamment résistants au cours de l'année. Les espèces ont alors développées des stratégies pour adapter leur niveau d'endurcissement aux conditions environnementales (Weiser, 1970). L'endurcissement au gel augmente en fin de saison estivale conjointement avec le début de la phase de repos, la réduction de la photopériode et la diminution des températures (Hong et Sucoff, 1982). Il devient maximal en hiver. Ensuite, il diminue avec l'augmentation de la photopériode et le radoucissement des températures jusqu'au débourrement. Son niveau est minimal durant la période de croissance active.

A cause du rôle fondamental de la résistance au gel dans la survie hivernale des plantes pérennes, le besoin de développer des méthodes permettant de déterminer le niveau de résistance au gel des plantes s'est avéré indispensable. La plupart de ces méthodes sont basées sur des tests de gel contrôlé, suivi d'une évaluation des dommages causés par ce gel sur la plante entière et sur ces capacités à croître. Cependant, parce qu'une analyse exhaustive de cette résistance implique un temps et des efforts considérables, des tests simples ont été développés en exposant seulement une partie de la plante à des températures gélives (Linden, 2002). L'utilisation de segments de plante fournit des informations détaillées sur le niveau d'endurcissement des différents tissus et organes du végétal. Par exemple, la mesure relative de la fluorescence (F_v/F_m) peut être utilisée pour estimer le niveau d'endurcissement au gel des feuilles (Boorse *et al*, 1998). Les changements de diamètre des rameaux peuvent également être utilisés pour évaluer la résistance au gel de l'écorce (Améglio *et al*, 2001a). D'autres méthodes évaluent les dommages causés par les températures gélives de l'air par simples observations visuelles (Boorse *et al*, 1998) ou en observant la coloration des tissus vivants (Sutinen *et al*, 1992a)

Le test de la fuite des électrolytes cellulaires est une des premières méthodes utilisées dans les recherches sur la résistance au gel (Dexter *et al*, 1930 ; Dexter *et al*, 1932). Il est bien

adapté pour mesurer les dommages induits par le gel. Il est basé sur l'altération des membranes cellulaires (Zhang et Willison, 1987). Cette dernière étant habituellement exprimée comme le ratio de la conductivité électrique d'une solution dans lequel baigne un segment de plante traité par un gel et du même segment après la lyse de toutes ses cellules. Pour corriger la conductivité électrique présente initialement dans le segment témoin avant tout stress de gel, Flint et McGuire (1962) développèrent un indice de dommages dans lequel le pourcentage de lyse cellulaire du tissu témoin est considéré comme égale à 0% de lyse cellulaire. Le pourcentage de lyse cellulaire du tissu complètement lysé représente, quant à lui, 100%. Le principe général de cet index est qu'un stress de gel sévère doit donner une valeur stable de 100%.

L'objectif principal de ce premier chapitre est, tout d'abord, d'adapter le test de fuite des électrolytes pour estimer le niveau d'endurcissement au gel chez le noyer. Ensuite, nous comparerons le pourcentage où on observe 50% de lyse cellulaire (LT₅₀) calculé par le test de fuite des électrolytes classique (Zhang et Willison, 1987) et par la méthode de Sutinen (Sutinen *et al*, 1992) sur plusieurs espèces d'arbres. Enfin, la comparaison de cette méthode avec d'autres (méthode GélitaTM, évaluation sur plante entière et observation des dommages cellulaires au microscope optique) sera réalisée pour montrer sa pertinence.

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre est décrit dans le paragraphe 1.2.1 (noyers en conteneur, terre, page 87). En complément, nous avons également utilisé, pour comparer les méthodes de calcul de détermination de la résistance au gel des rameaux de l'année, trois arbres adultes de 17 autres espèces d'arbres (*Acer pseudoplatanus* L., *Alnus glutinosa* L., *Betula pubescens* Ehrh, *Carpinus betulus* L., *Corylus avellana* L., *Fagus sylvatica* L., *Fraxinus excelsior* L., *Juglans regia* L., *Juglans regia x nigra*, *Larix decidua* Mill., *Olea europea* L., *Pinus sylvestris* L., *Populus nigra* L., *Prunus avium* L., *Prunus domestica* L., *Quercus robur* L., *Robinia pseudoacacia* L.). Ces arbres adultes sont cultivés sous conditions naturelles près de la station de l'INRA de Theix (Puy de Dôme), à l'exception d'*Olea europea* L. qui provient de l'INRA de Melgueil près de Montpellier. Les méthodes dont nous nous sommes servies sont présentées dans les paragraphes 2.7.2 (traitements de gel-dégel) (page 111), 2.7.3 et 2.7.4 (résistance au gel) (pages 112 et 114), 2.4 (microscopie optique) (page 102), 3.1 et 3.2 (analyses statistiques) (pages 117).

Résultats

1.1 Estimation de l'endurcissement au gel par le test de fuite des électrolytes

Les LT_{50} , estimés par le test de fuite des électrolytes, varient significativement selon la méthode de calcul utilisée. La *figure m.21* illustre graphiquement les différentes façons de déterminer le LT_{50} sur des segments de rameaux de l'année de noyers.

La méthode de Sutinen montre qu'en absence de gel, il existe une lyse cellulaire initiale importante (37%). La méthode classique propose de ramener à zéro la lyse initiale hors gel. Cette lyse cellulaire, initialement présente en absence de gel, est principalement due à la préparation de l'échantillon (découpe de l'échantillon). Ainsi, lorsque le fractionnement des échantillons augmente (données non présentées), la quantité d'électrolytes perdue et la conductivité initialement mesurée augmente. Sur l'autre extrémité de la courbe, un gel fort ($< -60^{\circ}\text{C}$) ne produit pas 100% de lyse cellulaire sur les mêmes échantillons. La découpe de l'échantillon et les dommages liés au gel produisent un pourcentage de lyse cellulaire maximal de 85%. L'autoclavage provoque les 15% restant. Ainsi, le LT_{50} est déterminé à une température voisine de -22°C par la méthode classique contre -17°C avec la méthode de Sutinen. La même comparaison entre la lyse cellulaire initiale (sans effet du gel) et celle maximale (après une température de gel inférieur à -60°C) a été réalisée sur plusieurs espèces d'arbres adultes en milieu naturel à l'automne et en hiver. La *figure I.1* montre l'effet des trois facteurs responsables de la fuite des électrolytes : la découpe, le gel et l'autoclavage. De faibles différences entre les saisons et entre les espèces sont notées pour la partie issue de la découpe des échantillons. Au contraire, l'autoclavage montre une plus grande variation entre espèces (par exemple, la valeur minimale est rencontrée en hiver pour *Alnus glutinosa* L. (22%), alors qu'à la même période, elle est maximale pour *Betula pubescens* Ehrh (55%)). On observe également de fortes variations entre les saisons pour une même espèce (par exemple, pour *Betula pubescens* Ehrh : la part du stress d'autoclavage a été évaluée à 39% à l'automne contre 55% en hiver). Si on évalue la différence d'estimation entre la méthode classique et la méthode de calcul de Sutinen (*Tableau I.1*), la méthode classique surestime, parfois très fortement (*Acer pseudoplatanus* L., -35°C), la résistance au gel déterminée par la méthode de Sutinen.

Tableau I.1 : Différence, exprimée en degré, entre la valeur du LT₅₀ calculée par la méthode classique (Zhang et Willison, 1987) et la méthode de Sutinen (Sutinen *et al*, 1992), au cours de la période hivernal de plusieurs espèces d'arbres. Les valeurs indiquées sont des moyennes (n=3).

Espèces d'arbre	Δ LT₅₀ hivernal
	(LT ₅₀ méthode classique – LT ₅₀ méthode de Sutinen)
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	-35 = (-51°C) - (-16°C)
<i>Alnus glutinosa</i> L.	-10 = (-22°C) - (-12°C)
<i>Betula pubescens</i> Ehrh	-32 = (-45°C) - (-13°C)
<i>Carpinus betulus</i> L.	-31 = (-51°C) - (-20°C)
<i>Corylus avellana</i> L.	-16 = (-28°C) - (-12°C)
<i>Fagus sylvatica</i> L.	-8 = (-23°C) - (-15°C)
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	-9 = (-20°C) - (-11°C)
<i>Juglans regia</i> L.	-5 = (-22°C) - (-17°C)
<i>Juglans regia</i> x <i>nigra</i> L.	-11 = (-21°C) - (-10°C)
<i>Larix decidua</i> Mill.	-17 = (-29°C) - (-12°C)
<i>Olea europea</i> L.	-19 = (-28°C) - (-9°C)
<i>Pinus sylvestris</i> L.	-34 = (-52°C) - (-18°C)
<i>Populus nigra</i> L.	-14 = (-36°C) - (-22°C)
<i>Prunus avium</i> L.	-10 = (-19°C) - (-9°C)
<i>Prunus domestica</i> L.	-9 = (-21°C) - (-12°C)
<i>Quercus robur</i> L.	-16 = (-29°C) - (-13°C)
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	-15 = (-36°C) - (-21°C)

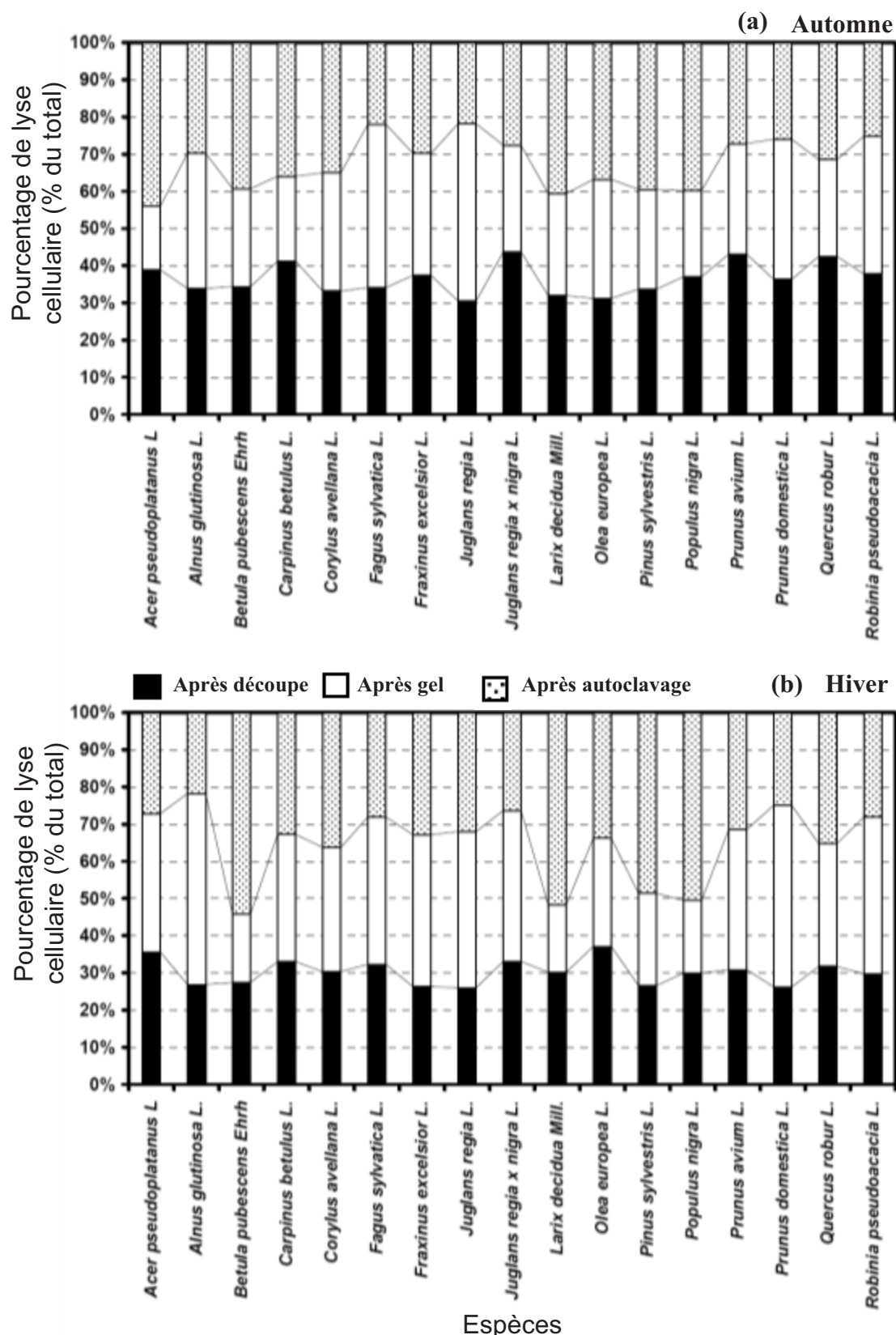


Figure I.1 : Représentation à l'automne (a) et en hiver (b) de l'ensemble des dommages induits sur des rameaux de plusieurs espèces adultes traités à une température inférieure à -60°C . Les dommages sont répartis selon trois types : ceux induits initialement (lié à la découpe), ceux provoqués en final par l'autoclavage (autoclavage) et ceux dus au traitement de gel (gel).

1.2 Changement saisonnier de la résistance au gel

Entre le mois d'octobre 2005 et le mois d'avril 2006, les changements saisonniers du niveau d'endurcissement au gel, sur des rameaux défoliés et témoins, ont été suivis par le test de fuite des électrolytes (*figure I.2*). A l'automne, la résistance au gel des rameaux de noyer (défoliés ou témoins) est faible autour d'une valeur moyenne de -4°C . Elle augmente ensuite graduellement entre l'automne et l'hiver. Au milieu de l'hiver, la résistance au gel des rameaux témoins est la plus élevée et atteint une valeur de -16°C contre -10°C pour les rameaux défoliés ($P = 0,009$). Ces valeurs de résistance sont obtenues en utilisant la méthode de calcul de Sutinen. Puis, le désendurcissement s'amorce. Durant le printemps, la résistance au gel des rameaux diminue progressivement pour les deux traitements. Au moment du débourrement, l'endurcissement au gel est faible et identique pour les deux conditionnements (-7°C). Ainsi, pour les rameaux, la valeur minimale de la résistance au gel est observée à l'automne (entre la fin du mois d'octobre et le début du mois de novembre), alors que la valeur maximale de résistance au gel est obtenue au milieu de l'hiver (à la fin du mois de janvier).

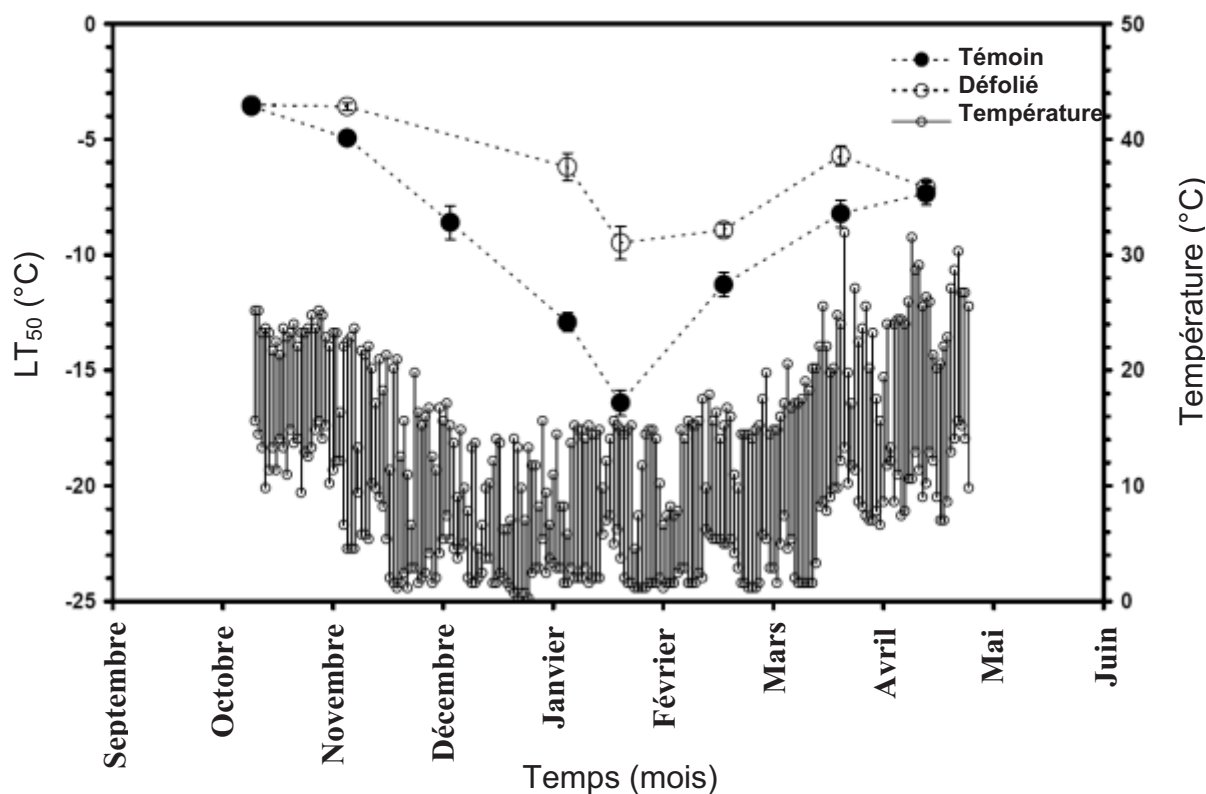


Figure I.2 : Evolution au cours du temps du LT₅₀ des rameaux de noyers témoins (cercle plein) et défoliés (cercle vide). L'évolution au cours du temps des températures minimales et maximales journalières de l'air sont également indiquées. Les moyennes et les erreurs standards sont représentées.

C'est la raison pour laquelle, ces deux périodes de la dynamique d'endurcissement au gel ont été choisies afin de caractériser la résistance au gel du noyer et de comparer les méthodes d'estimation de la résistance au gel.

1.3 Estimation de l'endurcissement au gel par la méthode Gélista™

La *figure I.3* présente les résultats de la méthode Gélista™ sur des segments de rameaux de noyers défoliés et témoins.

Trois températures (-10°C , -20°C et -30°C) sont imposées au milieu de l'hiver sur des segments de rameaux. Nous pouvons observer une contraction lorsque les exothermes apparaissent, matérialisant la prise en glace à l'intérieur du rameau (flèche). Dans les segments de rameaux de noyers isolés, ces exothermes surviennent entre -5°C et -8°C . Les variations enregistrées par les capteurs LVDT sont différentes entre les rameaux témoins et défoliés (*figure I.3 (a), (b) et (c)*), suggérant une acclimatation distincte. Après plusieurs cycles à -10°C , les fluctuations du diamètre sont entièrement réversibles pour les rameaux témoins. Ils semblent donc acclimatés à résister à cette température de -10°C . Par contre, on observe une perte progressive du diamètre après plusieurs cycles de gel/dégel à $-20^{\circ}\text{C}/+5^{\circ}\text{C}$ ou à $-30^{\circ}\text{C}/+5^{\circ}\text{C}$. L'échantillon a donc perdu progressivement sa résistance au gel à cause des dommages successifs (lyse cellulaire) provoqués par ces cycles de gel/dégel. Par opposition, pour le traitement défolié (*figure I.3 (a)*), une perte de diamètre est observée dès le premier cycle de gel/dégel à -10°C . Après la répétition des cycles, des pics (augmentation ponctuelle) apparaissent sur la courbe de variations de diamètre. Ces sauts coïncident avec les exothermes et les endothermes qui se produisent dans l'échantillon. Finalement, un gonflement des segments est observé durant la phase de gel, signe de lyse cellulaire complète. Les deux autres températures étudiées (-20°C et -30°C) présentent des résultats similaires (*figure I.3 (b) et (c)*). Mais le gonflement associé à l'exotherme, après la première perte de diamètre, est observé plus tôt. La méthode Gélista™ montre donc que les rameaux témoins sont résistants jusqu'à -10°C . Alors que les rameaux défoliés sont sensibles au gel dès -10°C .

La *figure I.4* illustre graphiquement la détermination de la valeur du LT_{50} par la méthode Gélista™.

Ainsi, selon cette méthode de calcul, en hiver, le 50% de lyse cellulaire devrait être situé à une température de -25°C pour les rameaux témoins et de -7°C pour les rameaux défoliés. Il est intéressant de noter qu'après un cycle de gel/dégel, la perte maximale de diamètre mesurée n'est jamais totale. Elle semble pour les arbres défoliés plafonner à 80% de la perte total de diamètre.

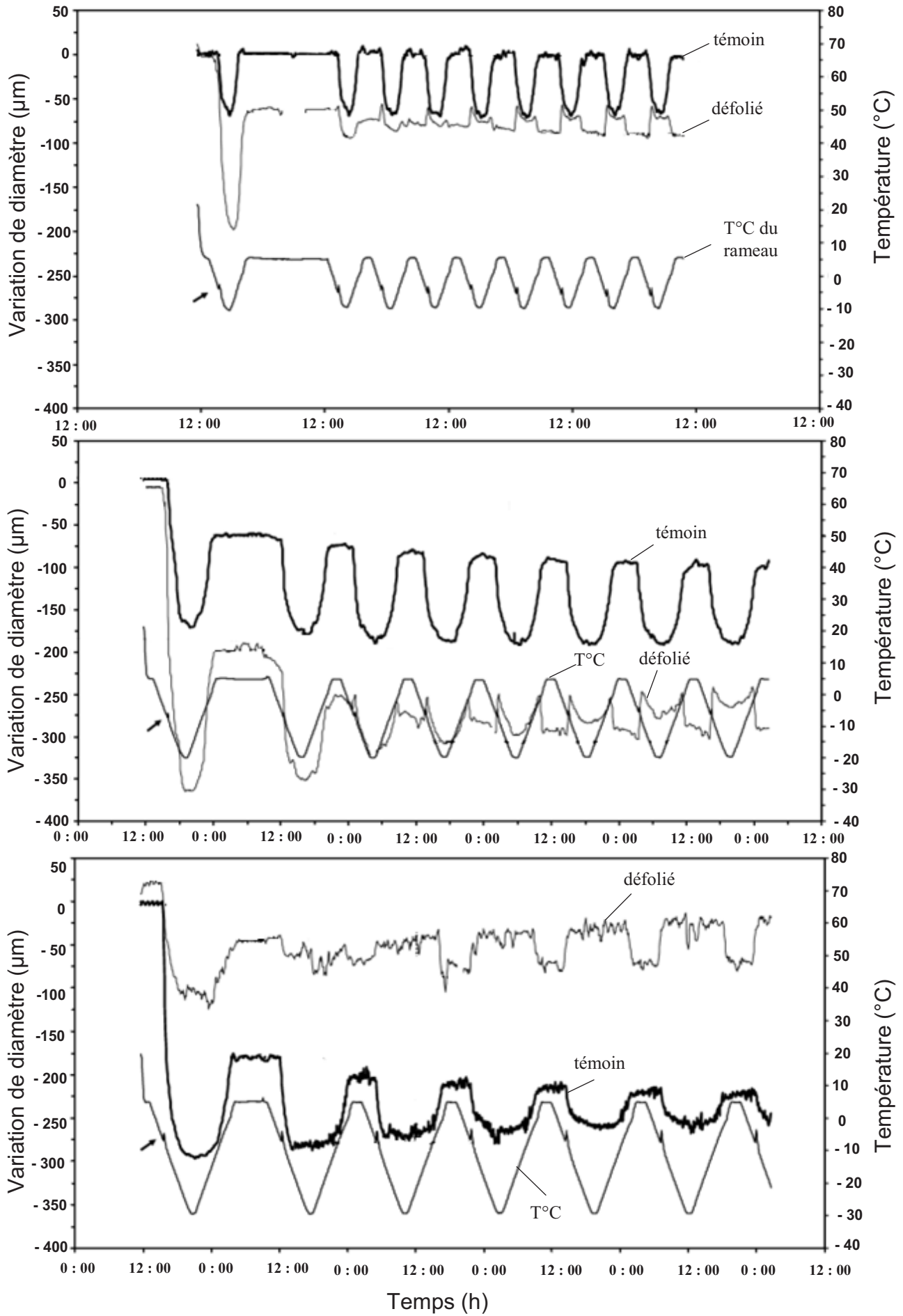


Figure I.3 : Variation du diamètre des segments de rameaux témoins et défoliés. La température des rameaux au cours des différents cycles de gel/dégel est représentée. (a) pour une température minimale de l'air de -20°C, (b) pour une température minimale de l'air de -10°C, (c) pour une température de l'air de -30°C. Les lettres a et b représentent les deux paramètres utilisés dans le calcul du pourcentage de dommages de la méthode GélitaTM. Nous pouvons observer un exotherme lorsque le rameau gèle (flèche).

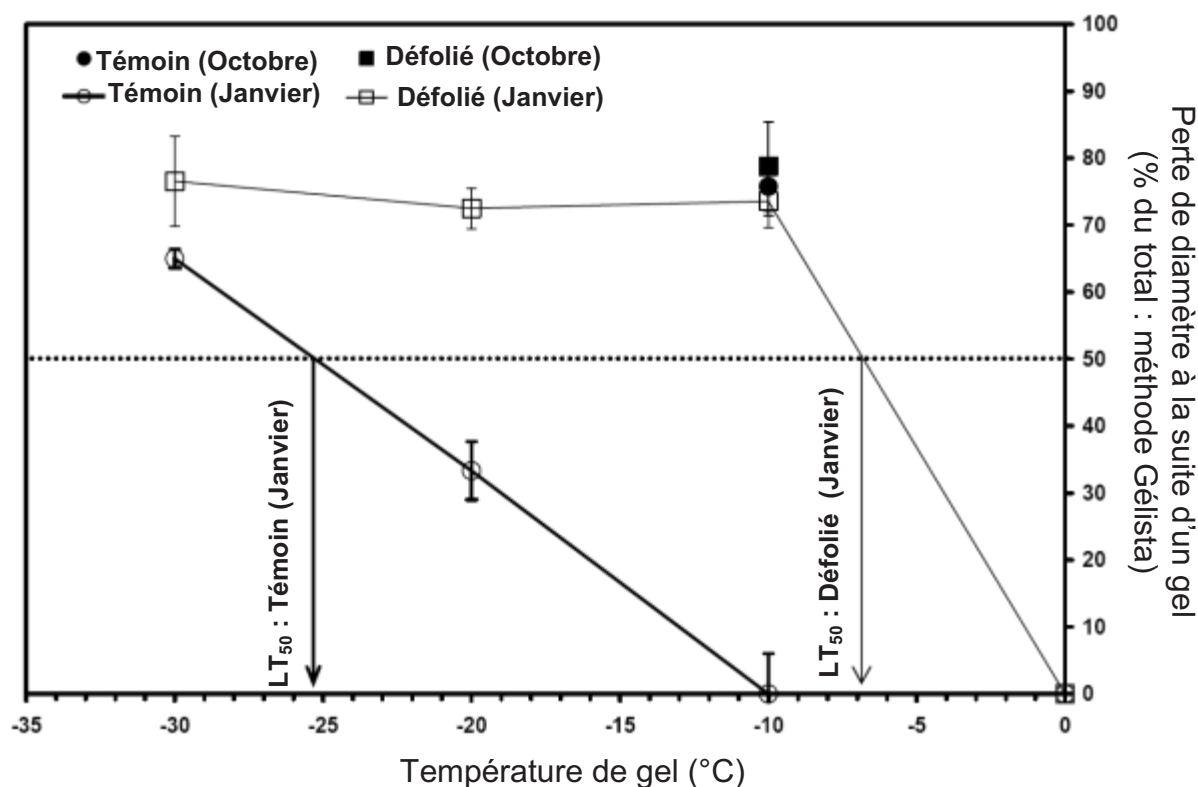


Figure I.4 : Estimation de la résistance au gel (LT_{50}) par la méthode GélistaTM pour deux traitements (témoin et défolié) et pour deux dates (Octobre et Janvier). La perte de diamètre, représentée par le pourcentage (du total) de perte de diamètre à la suite d'un cycle à la température de gel testée, est présentée. Pour chaque température testée, la moyenne et l'erreur standard sont indiquées (n=3).

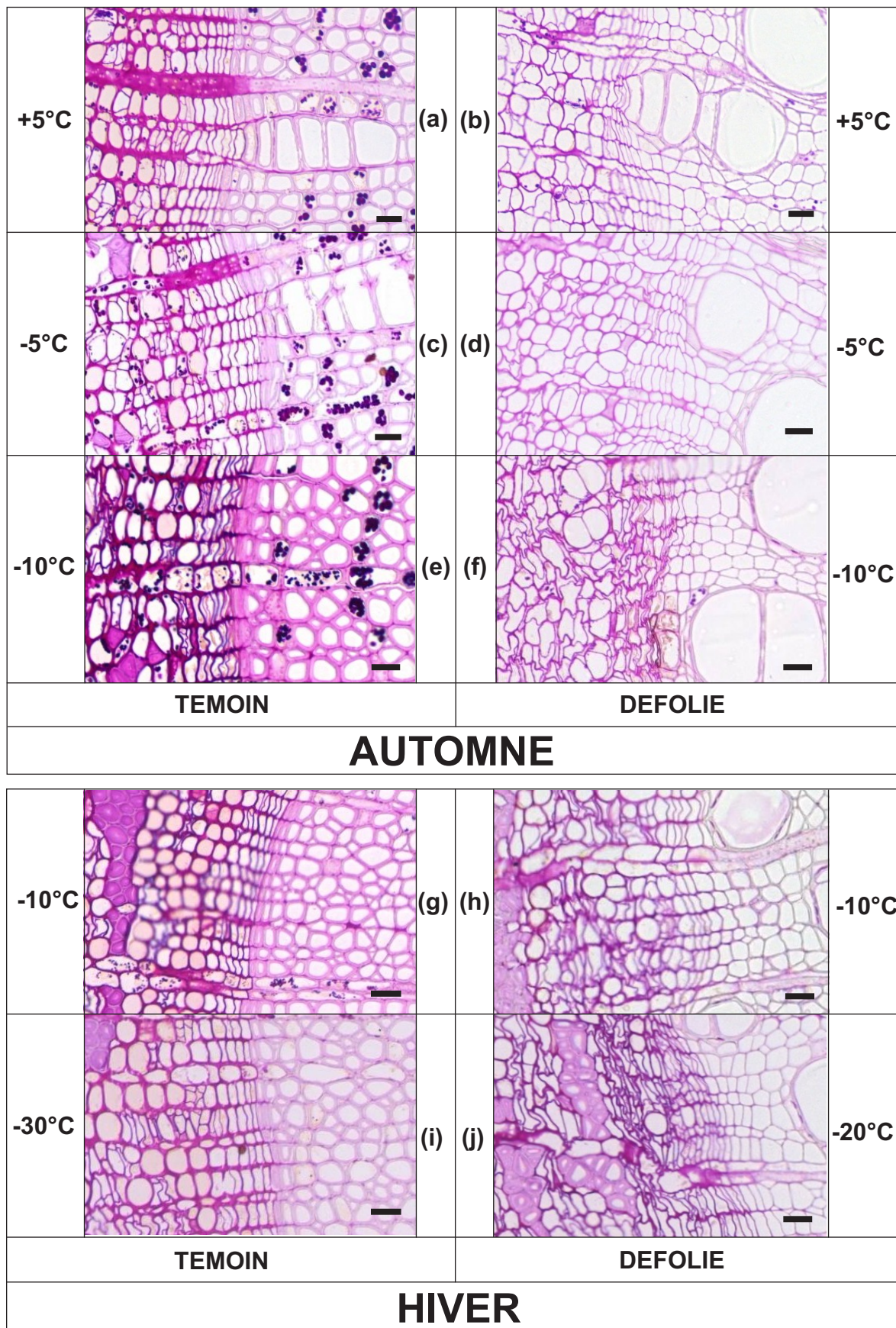


Figure 1.5 : Section transversale de rameaux d'un an de noyer. La zone cambiale apparaît à l'interface phloème-xylème (X=Xylème, ZC : Zone Cambiale, P=Phloème). Les deux traitements sont représentés (témoin (a, c, e, g, i) et défolié (b, d, f, h, j) à l'automne (a, b, c, d, e, f) et en hiver (g, h, i, j). Les grains d'amidon peuvent être observés à l'automne dans les échantillons témoins. Barre horizontale = 20µm.

A l'automne, la résistance au gel des rameaux de noyer (défoliés ou non), calculée par cette méthode, est de -7°C . Aucune différence n'est observée à cette période entre les arbres témoins et traités. Les rameaux témoins et traités ne semblent donc pas endurcis.

1.4 Visualisation des dommages cellulaires au microscope optique

La *figure I.5* montre l'impact d'un cycle de gel/dégel, à différentes températures gélives, sur la structure des cellules. Sur toutes les photographies, le phloème est localisé à gauche, le xylème est situé à droite, et la zone cambiale se trouve au centre. A l'automne, au moment de la chute des feuilles, il y a de nombreux grains d'amidon dans les cellules du parenchyme des arbres témoins (*figure I.5 (a), (c) et (e)*), contrairement aux arbres défoliés (*figure I.5 (b), (d) et (e)*). Par contre, en hiver, tous les grains d'amidon des cellules du parenchyme ont disparu. Une déformation des cellules due au cycle de gel/dégel est seulement observée au niveau de la zone cambiale. A l'automne, les rameaux témoins et défoliés apparaissent sensibles au gel entre -5°C (*figure I.5 (c) et (d)*) et -10°C (*figure I.5 (e) et (f)*). En hiver, les rameaux des arbres défoliés restent sensibles au gel entre -10°C et -20°C (*figure I.5 (h) et (j)*), tandis que les rameaux témoins apparaissaient exempts de tout dommage jusqu'à -30°C (*figure I.5 (i)*).

1.5 Test de gel sur plantes entières

Des expériences de refroidissement sur plantes entières, jusqu'à une température minimale de -10°C , aboutissent à des contractions du diamètre des rameaux lors de l'apparition des exothermes. Ceci a été réalisé sur des arbres défoliés et témoins en conteneur à l'intérieur d'une grande chambre de refroidissement (*figure I.6 (a) et (b)*). Pendant l'hiver (*figure I.6 (b)*), les cycles de gel/dégel provoquaient une contraction réversible du diamètre des rameaux des deux catégories d'arbres (témoins et défoliés). Tandis que, durant l'automne, ils induisaient de nombreuses pertes de diamètre irréversibles. De plus, dès le premier cycle de gel/dégel, des pics sur la courbe de variation du diamètre, sont associés à chaque exotherme et endotherme. Au printemps, le débourrement et la croissance des nouvelles pousses ont été suivis sur ces arbres. Les résultats ont ensuite été comparés avec ceux d'arbres n'ayant pas subis de cycles de gel/dégel.

Ainsi, à l'automne, aucun arbre n'a survécu après quatre cycles de gel/dégel à -10°C . A l'opposé, la répétition de quatre cycles de gel/dégel à -10°C en hiver n'a eu aucun effet sur la capacité de survie de ces arbres au printemps suivant. La croissance des arbres traités en hiver était similaire aux arbres non traités.

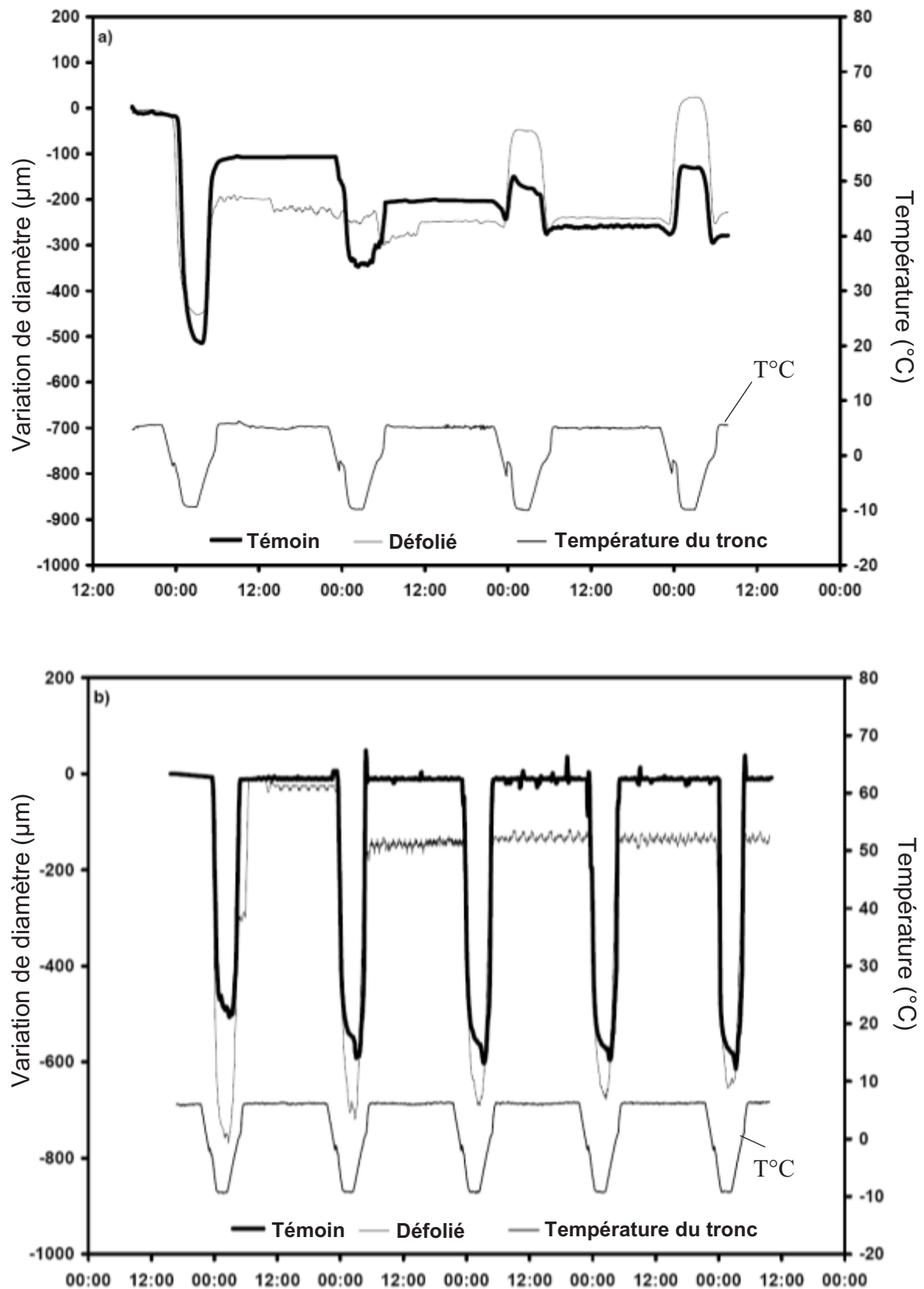


Figure I.6 : Variation de diamètre des rameaux de noyers au cours de plusieurs cycles de gel/dégel à -10°C/+5°C, pour les deux traitements (témoin et défolié), en octobre (a) et en janvier (b). La température du tronc de l'arbre est indiquée.

Discussions

Le test de fuite des électrolytes

Le test de fuite des électrolytes est une technique fréquemment employée dans les travaux de recherche sur la résistance au gel. Depuis les années 1930 (Dexter *et al*, 1930 ; Dexter *et al*, 1932), elle a continuellement été affinée (Zhang et Willison, 1987 ; Murray *et al*, 1989 ; Sutinen *et al*, 1992 ; Linden *et al*, 2000). Nous avons montré que cette méthode peut être utilisée pour déterminer la résistance au gel des rameaux de *Juglans regia* L. entre la chute des feuilles et le débourrement (*figure I.2*) et qu'elle apparaît suffisamment discriminante pour séparer l'impact d'un traitement estival de défoliation par rapport à un traitement témoin sur la résistance au gel au cours de l'hiver. Néanmoins, la manière de calculer le LT₅₀ par cette méthode peut être source de grande variation dans la détermination de la température à laquelle 50% des cellules sont lysées (*figure m.21 et tableau I.1*).

Sutinen *et al* (1992) avaient observé chez *Pinus resinose* Ait., durant la période la plus froide de l'hiver, une grande différence entre le LT₅₀ calculé par le test de fuite des électrolytes et celui obtenu à la suite des observations visuelles. Durant cette période, bien que les observations visuelles indiquaient des dommages importants sur les aiguilles exposées à une température inférieure à -70°C, le pourcentage de lyse cellulaire n'était que de 30%. Dans notre cas, pour des segments de rameaux de noyers exposés à une température gélive inférieure à -60°C, ce pourcentage est de 85%. Par contre, pour les autres espèces utilisées dans cette étude, le pourcentage de lyse cellulaire maximal varie entre 46% (*Betula pubescens* Ehrh) et 78% (*Fagus sylvatica* L.). Ainsi, d'après nos résultats, la valeur de 100% de lyse cellulaire n'est jamais atteinte.

Dans notre étude, nous avons estimé et séparé les différentes causes qui expliquent les 100% de dommages mesurés par conductivité électrique. Pour le pourcentage de lyse cellulaire initialement rencontré avant tout gel, nous pouvons considérer l'impact de la préparation des échantillons sur la conductivité électrique (dus à la découpe). Deans *et al* (1995) recommandent une longue incubation des échantillons (de 20 à 24h) pour permettre une mise en solution optimale de tous les électrolytes. Whitlow *et al* (1992) suggèrent, quant à eux, de prendre en considération la surface de l'échantillon au travers de laquelle les électrolytes diffusent. Dans notre étude, nous avons respecté une longue incubation de 22 heures environ et le pourcentage de lyse cellulaire initial, résultant de la découpe, représente

un tiers de la lyse cellulaire. Ce pourcentage reste très stable d'une saison à l'autre et entre les espèces (figure I.1). A l'opposé, la valeur maximale du pourcentage de lyses cellulaires liées à l'autoclavage varie fortement selon les espèces entre 22% et 54%. Le pourcentage de lyses cellulaires dues au gel représente, quant à lui, un maximum de 51% de la lyse totale pour *Alnus glutinosa* L. en hiver et un minimum de 17% pour *Acer pseudoplatanus* L. à l'automne (figure I.1 (a) et (b)). Les raisons d'une valeur maximale du pourcentage de lyses cellulaires aussi faible sont encore inconnues. La faiblesse de ce pourcentage sur des échantillons de plantes ligneuses bien acclimatées a été décrite dans plusieurs articles (Sutinen *et al*, 1992 ; Anisko et Lindstrom, 1995 ; Deans *et al*, 1995 ; Repo *et al*, 1996). Deans *et al* (1995) suggèrent qu'une longue incubation des échantillons et qu'une durée d'autoclavage élevée pouvaient provoquer une fuite d'électrolytes supplémentaire et compromettre la qualité des données. Au cours de l'endurcissement au gel, les propriétés de la paroi cellulaire changent (Griffith et Brown, 1982). Notamment, la lignification et la subérisation de la paroi des cellules augmentent à l'automne. Ainsi, le faible pourcentage de lyse cellulaire (faible fuite d'électrolytes) des échantillons prélevés en hiver peut être dû au changement des propriétés de la paroi cellulaire. Ces propriétés confèrent une résistance à la diffusion des électrolytes du milieu cellulaire vers le milieu extracellulaire (Sutinen *et al*, 1992). Cet argument peut expliquer pourquoi, dans notre étude, le pourcentage de lyse cellulaire provoqué par le stress gel diminue entre l'automne et l'hiver chez plusieurs espèces (*Betula pubescens* Ehrh, *Fagus sylvatica* L., *Larix decidua* Mill., *Olea europea* L., *Pinus sylvestris* L., *Populus nigra* L.). Par contre, nous avons observé une variation contraire pour d'autres espèces et, dans ce cas, cette hypothèse du changement des propriétés de la paroi cellulaire ne se vérifie plus. Enfin, le rôle du traitement d'autoclavage, qui libère le reste des électrolytes, est rarement discuté dans la littérature, bien qu'il représente à lui seul plus de 20% de l'ensemble des dommages chez *Juglans regia* L. et plus de 50% chez d'autres espèces (*Alnus glutinosa* L., *Larix decidua* Mill. ou *Populus nigra* L.). Dans ces conditions, l'autoclavage influence certainement la composition des différents éléments séquestrés dans la paroi (et non nécessairement dans la vacuole), la libération de ces éléments dans la solution augmente très probablement la valeur de la conductivité électrique mesurée. Une détermination précise de la perte maximale d'électrolytes apparaît essentielle pour déterminer précisément l'impact des températures gélives. Pour cette raison, nous avons décidé d'ajouter une température gélive inférieure à -60°C afin d'avoir une meilleure estimation du plateau correspondant à 100% de dommages liés au gel, de prendre une gamme de 4 températures de gel pour représenter la partie linéaire de la courbe du « pourcentage de lyse cellulaire en fonction de la température » et d'utiliser

un indice de dommages identique à celui développé par Sutinen *et al* (1992). Cette précaution n'est pas toujours respectée dans la littérature et les données de LT₅₀ publiées surestiment souvent la température des 50% de lyse cellulaire du matériel analysé. Ce point peut expliquer que certaines espèces d'arbres des régions tempérées montrent une résistance au gel très élevée en hiver et que leur distribution géographique ne semble pas coïncider avec leur température de résistance maximale (Sakai et Weiser, 1973). Ces observations posent la question de la relation entre la valeur du LT₅₀ et la résistance *in vivo* du matériel végétal (ou de l'arbre dans les conditions naturelles).

Comparaison du test de fuite des électrolytes avec d'autres méthodes

Palta *et al* (1978) indiquent que la précision de l'estimation de la résistance au gel peut être appréciée en utilisant simultanément deux ou plusieurs tests de viabilité et en combinant les résultats de ces tests. Ce principe a été utilisé par plusieurs auteurs pour comparer des méthodes entre elles et pour estimer la résistance au gel (Zhang et Willison, 1987 ; Burr *et al*, 1990 ; Sutinen *et al*, 1992 ; Boorse *et al*, 1998). Nous l'avons également appliqué à notre étude en comparant le test de fuite des électrolytes à d'autres méthodes (GélistaTM, microscopie optique, test sur plantes entières). La méthode GélistaTM (figure I.3 et I.4), comme le test de fuite des électrolytes (figure m.21 et I.2), sont des méthodes quantitatives, contrairement aux autres méthodes qui indiquent seulement une gamme de résistance au gel (figure I.5 et I.6), elles peuvent donc, aisément, être comparées. La méthode GélistaTM renseigne aussi sur la température de prise en glace environ -6°C (figure I.3), lors de la variation du diamètre des rameaux. Les contractions observées traduisent la réponse au gel par déshydratation de la cellule (figure I.3). Nous observons donc que les noyers présentent un mécanisme d'évitement de la formation de la glace comme l'avait déjà montré Améglio *et al* (2001a). Ce mécanisme peut être apparenté à la formation de la glace en milieu extracellulaire (Levitt, 1980). Dans ce procédé, l'eau de la paroi cellulaire gèle en premier lors d'un refroidissement, car cette eau a une teneur en solutés plus faible que celle contenue dans la vacuole ou dans le cytoplasme de la cellule. Une différence de potentiel chimique se crée alors entre la glace du milieu externe et l'eau à l'état liquide du milieu interne. Par conséquent, l'eau diffuse de la cellule, à travers la membrane plasmique, vers le point du milieu extracellulaire où s'est formée la glace (Zweifel et Hasler, 2000). La méthode GélistaTM permet la mesure immédiate des dommages durant la phase de dégel, alors que

certaines approches, telles que le test de fuite des électrolytes, nécessitent une incubation de un à cinq jours (Zhang et Willison, 1987 ; Murray *et al*, 1989). La particularité de la méthode GélistaTM est qu'elle renseigne principalement sur le niveau de résistance au gel de l'écorce (tissu élastique), tandis que le test de fuite des électrolytes peut être appliqué à différents tissus ou, globalement, sur des rameaux comme nous l'avons vu dans ce chapitre. Cette méthode présente l'avantage d'être pauvre en matériel végétal. Enfin, l'automatisation de la procédure peut être envisagée durant toute la durée de l'expérience.

Deux autres méthodes (la microscopie optique et le test sur plantes entières) ont été utilisées pour valider les valeurs de LT₅₀ trouvées (*figures I.5 et I.6*). Le test sur plantes entières estime directement la viabilité de la plante aux températures testées. Cette méthode est la méthode de référence, mais elle ne peut être utilisée que sur de jeunes plants. De plus, il nécessite beaucoup de temps et une chambre de refroidissement de gros volume assez coûteuse. Il nous a permis de vérifier la cohérence des résultats obtenus avec les autres méthodes selon les périodes (automne *vs.* hiver) et les traitements (témoin *vs.* défolié). Enfin, la microscopie optique montre la capacité des cellules à recouvrir leur forme initiale après un cycle de gel/dégel. Les cellules non endurcies ne reprennent pas leur forme initiale durant le dégel et sont donc endommagées (Levitt, 1980). Mais cette méthode n'est pas précise chez les espèces ligneuses car la déformation cellulaire est seulement visible au niveau de la zone cambiale ; une zone dans laquelle les cellules sont faiblement lignifiées. Elle permet néanmoins d'observer les conséquences de la résistance au gel sur les cellules de la zone cambiale en hiver et de distinguer à l'automne les traitements estivaux par la présence ou l'absence de grains d'amidon.

L'endurcissement au gel chez le noyer

Nous avons caractérisé l'endurcissement au gel à l'automne et le désendurcissement au printemps du noyer (*figure I.2*). Les rameaux apparaissent plus sensibles au gel à l'automne (-4°C) qu'au printemps (-7°C), au moment du débourrement ($P = 0,014$ pour le traitement témoin et $P = 0,020$ pour le traitement défolié). La période la plus critique pour la survie des noyers est donc à l'automne, période de l'année où la résistance au gel est la plus faible. Une tendance similaire (résistance au gel plus faible à l'automne) a été observée sur des espèces de chêne par Morin *et al* (2007). Le cycle annuel de la résistance au gel (phases d'endurcissement et de désendurcissement) semble étroitement synchronisé avec le cycle

annuel des températures. Dans la bibliographie, il est bien connu que l'endurcissement au gel d'un grand nombre d'arbres est augmenté par le froid (Sakai, 1966 ; Sakai et Larcher, 1987 ; Taulavuori *et al*, 2004) et par la vitesse du refroidissement (Strimbeck et Dehayes, 2000). Dans notre étude, ce fait a été vérifié par les conditions de cultures sous serre (*figure I.2*), où les températures s'abaissent lentement à l'automne en relation avec les températures de l'extérieur. Ainsi, la résistance au froid a peu progressé entre les prélèvements du mois d'octobre et ceux du mois de novembre. En hiver par contre, la différence entre les traitements témoin et défolié est significative et confirme qu'un autre processus, indépendant de la température, est impliqué dans l'endurcissement au gel. Le rôle des glucides peut être avancé, au regard des différences observées dans les réserves en amidon entre les traitements témoin et défolié (*cf. figure I.5 (a) et (b)*).

Les résultats de cette partie mettent en avant des précautions à prendre pour déterminer la résistance au gel par mesure de la conductivité électrique, en particulier, l'utilisation d'une température de gel très basse ($< -60^{\circ}\text{C}$) pour déterminer le plateau de lyse cellulaire maximale et de la méthode de calcul de Sutinen *et al* (1992). Nous avons également mis en avant les avantages et les inconvénients des différentes méthodes décrites, tout en validant le test de fuite des électrolytes, par rapport aux autres méthodes étudiées.

D'autres expériences et études seraient nécessaires pour comprendre réellement ce qui se passe pendant l'autoclavage et expliquer les grandes variations selon les espèces et les différentes périodes. Néanmoins, la méthode proposée permet d'obtenir des prédictions fiables de la température gélive où l'on obtient 50% de dommages cellulaires, ce qui va nous permettre d'étudier l'impact des changements du climat sur la résistance au gel des arbres dans le chapitre suivant.

**Chapitre II : Les critères physiologiques et
environnementaux de la résistance au gel**

Introduction

Au cours du XXI^{ème} siècle, la température moyenne à la surface de la terre devrait augmenter de 2 à 4,5°C (IPCC, 2001). Les événements climatiques extrêmes, tels que les périodes de grande chaleur et les épisodes de sécheresse similaires à ceux de l'été 2003, pourraient ainsi se produire plus fréquemment en Europe de l'ouest (Bréda *et al*, 2006). L'élévation des températures, particulièrement en hiver, provoquerait une anticipation des dates de débourrement et du désendurcissement printanier (Walther *et al*, 2002 ; Parmesan et Yohe, 2003). Les arbres seraient, par conséquent, beaucoup plus vulnérables aux gels tardifs (gels de printemps) (Hanninen, 1991).

L'acclimatation au gel semble principalement contrôlée par la température de l'air et la photopériode (Huner *et al*, 1998 ; Li *et al*, 2003a). Des modèles de prévision de la résistance au gel développés pour le pin sylvestre (*Pinus sylvestris* L.) utilisent ces deux variables pour décrire le développement de l'endurcissement au gel (Leinonen *et al*, 1995 ; Leinonen, 1996), mais ils ne prennent pas en considération les potentialités de survie des arbres à la suite d'événements climatiques extrêmes.

Pour prédire l'impact de ces changements climatiques sur la survie des arbres et la distribution géographique des ligneux, nous avons besoin de construire un modèle qui permettent à chaque instant de donner un niveau de résistance au gel en fonction des conditions climatiques, mais aussi de tenir compte de l'histoire du développement de l'arbre. En effet, les stress subis par l'arbre en été peuvent compromettre leurs capacités de survie future, notamment celle liées au gel. Il est donc nécessaire de prendre en compte ces perturbations dans le modèle. La synthèse bibliographique réalisée précédemment montre que la température est le principal facteur indispensable à une modélisation de la résistance au gel (Kellomäki *et al*, 1992 ; Repo, 1995 ; Leinonen *et al*, 1995 ; Leinonen, 1996). Ensuite, de nombreuses études ont mis en évidence une corrélation entre le niveau des teneurs en sucres solubles et la température de résistance au gel du tissu analysé (Siminovitch *et al*, 1953 ; Kramer et Kozlowski, 1979b ; Levitt, 1980 ; Tamassy et Zayan, 1982 ; Ashworth *et al*, 1993b ; Tinus *et al*, 2000 ; Améglio *et al*, 2004). Enfin, le moment d'apparition des cristaux de glace dépend des capacités de la cellule à retarder leur formation ; par conséquent, le contenu en eau devrait intervenir dans le niveau de résistance au gel des tissus. Nous avons donc choisi d'étudier et de prendre ces variables dans la construction de notre modèle. Nous avons cherché à quantifier les variations d'endurcissement au cours de l'hiver de cet arbre et à mettre en évidence des relations entre la température de résistance au gel et certaines variables

climatiques (températures) et/ou physiologiques (teneur en glucides et humidité pondérale) propre à cette espèce.

L'objectif de ce deuxième chapitre est donc, dans un premier temps, de suivre le niveau d'endurcissement au gel, les teneurs en glucides et l'humidité pondérale de rameaux de noyers adultes se développant sur deux environnements thermiques différents (plaine et moyenne montagne) au cours d'une période automno-hiverno-printanière. Dans un second temps, nous avons cherché à développer un modèle simple permettant de décrire le niveau d'endurcissement au gel des rameaux d'un an d'un noyer adulte en fonction de la température minimale de l'air, des teneurs en glucides et de l'humidité pondérale de ces rameaux. Enfin, nous avons testé et validé ce modèle en utilisant un jeu de données indépendant.

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre est décrit dans le paragraphe 1.1 (noyers adultes en plein champ) (page 86). Les méthodes dont nous nous sommes servies sont présentées dans les paragraphes 2.5 (dosages glucidiques) (page 104), 2.7 (résistance au gel) (page 110), chapitre I et dans le paragraphe 3 (analyses statistiques) (page 117).

Résultats

2.1 Impact du climat sur l'endurcissement au gel, la variation de l'humidité pondérale et la dynamique d'accumulation des glucides

2.1.1 Comparaison des climats des deux sites expérimentaux (site de Crouelle et site de Theix)

Le climat du site de Theix (commune de Saint-Genès-Champanelle) est semi-montagnard : il est situé à une altitude de 889 m et caractérisé par une température annuelle moyenne de $8,7 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (température basse) et des précipitations annuelles moyennes de 770 ± 32 mm (climat modéré) pour les 20 dernières années (1986 - 2005). Le site de Crouelle est situé en plaine avec un climat à forte influence continentale : son altitude est de 339 m et caractérisé par une température annuelle moyenne de $11,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (température moyenne) et des précipitations annuelles moyennes de 556 ± 31 mm (climat modéré, plus sec que celui de Theix) pour les 16 dernières années (1990 - 2005).

La variation des températures minimales et maximales journalières de l'air, durant la période expérimentale (du 1^{er} novembre 2004 au 30 juin 2005), est présentée par la *figure II.1*. Le domaine de Crouelle (*figure II.1 (a)*) est le site le plus chaud ($P < 0,0001$). La moyenne des températures minimales et celle des températures maximales de l'air, durant

l'expérimentation, étaient de $4,1 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ et de $13 \pm 1^{\circ}\text{C}$, respectivement (tableau II.1). Sur la parcelle de Theix, elles étaient respectivement de $1,4 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ et de $9,8 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ (figure II.1 (b)).

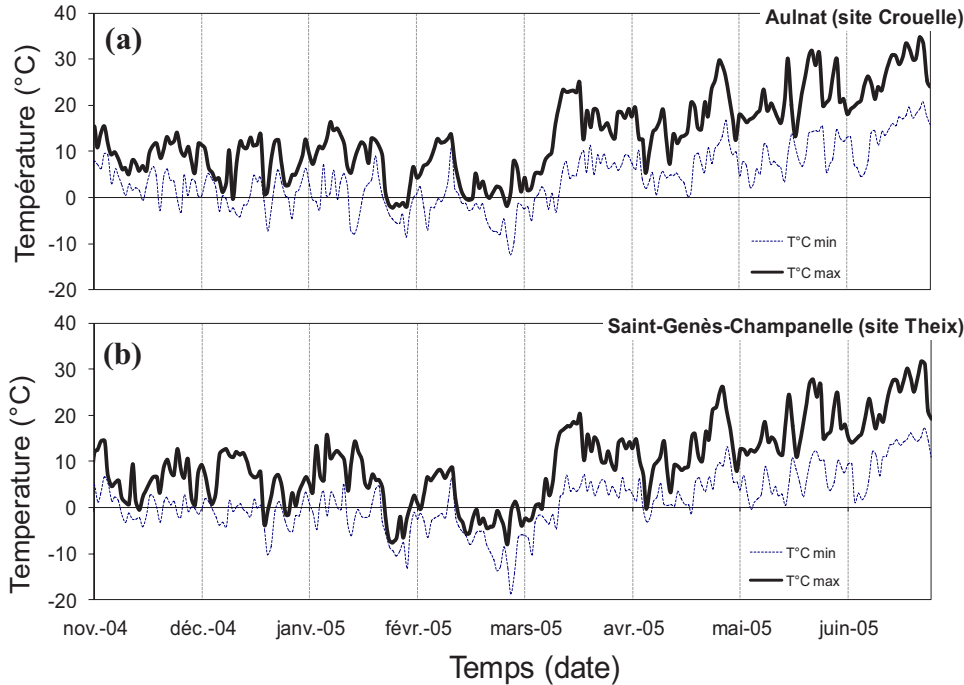


Figure II.1 : Variation au cours du temps des températures minimales et maximales journalières de l'air des deux sites expérimentaux ((a) : site de Crouelle (339 m) et (b) : site de Theix (889 m)).

Tableau II.1 : Caractérisation du climat des deux sites expérimentaux. Période d'étude : du 1^{er} novembre au 30 juin (n = 242 jours). a, b : des lettres différentes indiquent des valeurs (moyennes sur la période d'étude à Aulnat) significativement différentes au seuil P = 0,05 (test de Tukey consécutif à l'ANOVA, elle-même significative au niveau P = 0,003).

Année	Lieu	Température journalière (°C)							Amplitude thermique journalière (T°C _{max.} – T°C _{min.})		
		minimale			maximale			moyenne sur la période	la plus basse	la plus haute	moyenne sur la période.
		la plus basse	la plus haute	moy. sur la période	la plus basse	la plus haute	moy. sur la période				
2002-2003	Aulnat (site Crouelle)	-14,1	20,7	5,4 ±0,4	-5,9	37,1	15,5±0,6	10,4±0,5 ^b	0,5	23,5	10,1± 0,3
2004-2005	Aulnat (site Crouelle)	-12,5	20,7	4,1±0,4	-2,2	34,8	13,3±0,6	8,8±0,5 ^a	0,9	20,3	9,2±0,3
	St-Genès-Champanelle (site de Theix)	-18,6	17,3	1,4±0,4	-7,9	31,8	9,8±0,6	5,6±0,5	0,7	18,6	8,4±0,3
2005-2006	Aulnat (site Crouelle)	-9,9	17,5	3,6±0,4	-2,6	32,2	12,9±0,5	8,2±0,5 ^a	1	21,3	9,3±0,3

La température la plus basse, relevée sur le site de Theix entre le 1^{er} novembre 2004 et le 30 juin 2005, était de $-18,6^{\circ}\text{C}$ contre $-12,5^{\circ}\text{C}$ sur le site de Crouelle. Elles se sont produites

à la fin du mois de février pour les deux sites. L'amplitude thermique moyenne des deux sites expérimentaux sont comparables ($P = 0,06$). La remontée des températures commence sur les deux sites au début du mois de mars (*figure II.1*). La *figure II.2* montre l'écart des températures minimales journalières entre les deux sites. En moyenne, cet écart est de $+2,8 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$. La température minimale journalière du domaine de Crouelle étant plus élevée que celle du domaine de Theix, on note toutefois quelques inversions thermiques. Pendant les trois années d'expérimentation, 2002-2003 a été, sur Aulnat, la période la plus chaude (*tableau II.1*).

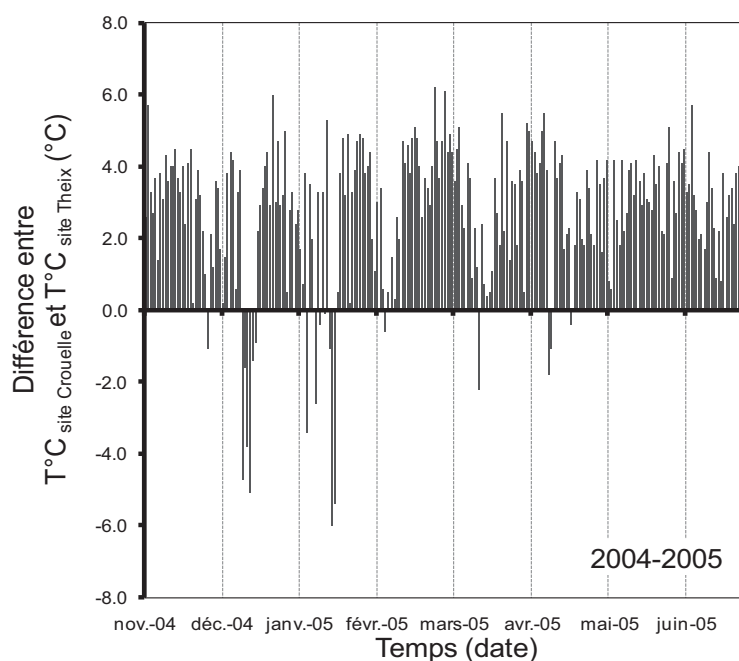


Figure II.2 : Différence entre les températures minimales journalières de l'air du site de Crouelle et celui de Theix (du 1^{er} novembre 2004 au 30 juin 2005).

2.1.2 Variation du niveau de résistance au gel sur la période d'étude

La *figure II.3* représente l'évolution de la résistance au gel entre le 8 novembre 2004 et le 24 mai 2005, pour les deux cultivars de noyer (hybride 'NG38' et 'Franquette'), sur les deux sites. En novembre, les plus basses températures pour lesquelles '50% de lyse cellulaire' est observé sont comprises entre -5°C et -10°C pour le cultivar 'Franquette' et entre -10°C et -15°C pour NG38. La résistance au gel augmente ensuite progressivement. Pour les deux cultivars, un maximum d'endurcissement est atteint à la fin du mois de février. Pour le cultivar 'Franquette', le niveau maximal de résistance au gel est en moyenne de -22°C contre -24°C pour l'hybride. Par la suite, concomitamment au radoucissement des températures

(figure II.1), le désendurcissement s'initie. La résistance au gel diminue régulièrement jusqu'au dernier prélèvement, en mai (figure II.3 (a) et (b)).

Les niveaux de résistance au gel des arbres de la variété 'Franquette' sur la période d'étude varient d'un site à l'autre, sauf pour la valeur maximale de février. En novembre, nous pouvons observer, sur la figure II.3 (a), une différence significative des LT_{50} de Franquette entre les deux sites (Theix : $-6,7 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$; Crouelle : $-9,2 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $P = 0,009$). Au début de l'endurcissement, sur le site de Theix, la résistance au gel est la plus faible (novembre $P = 0,009$ et décembre $P = 0,009$). En février, les maxima de résistances au gel entre les deux sites d'étude ne sont pas significativement différents (Theix : $LT_{50} = -21,2 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, Crouelle : $LT_{50} = -21,1 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $P = 0,917$). En mars, le désendurcissement est plus rapide sur le site le plus chaud (Crouelle), mais les arbres situés à Crouelle redeviennent les plus résistants à la fin du mois de mai ($P = 0,028$). On peut également noter une différence significative de la période de débourrement entre les deux sites.

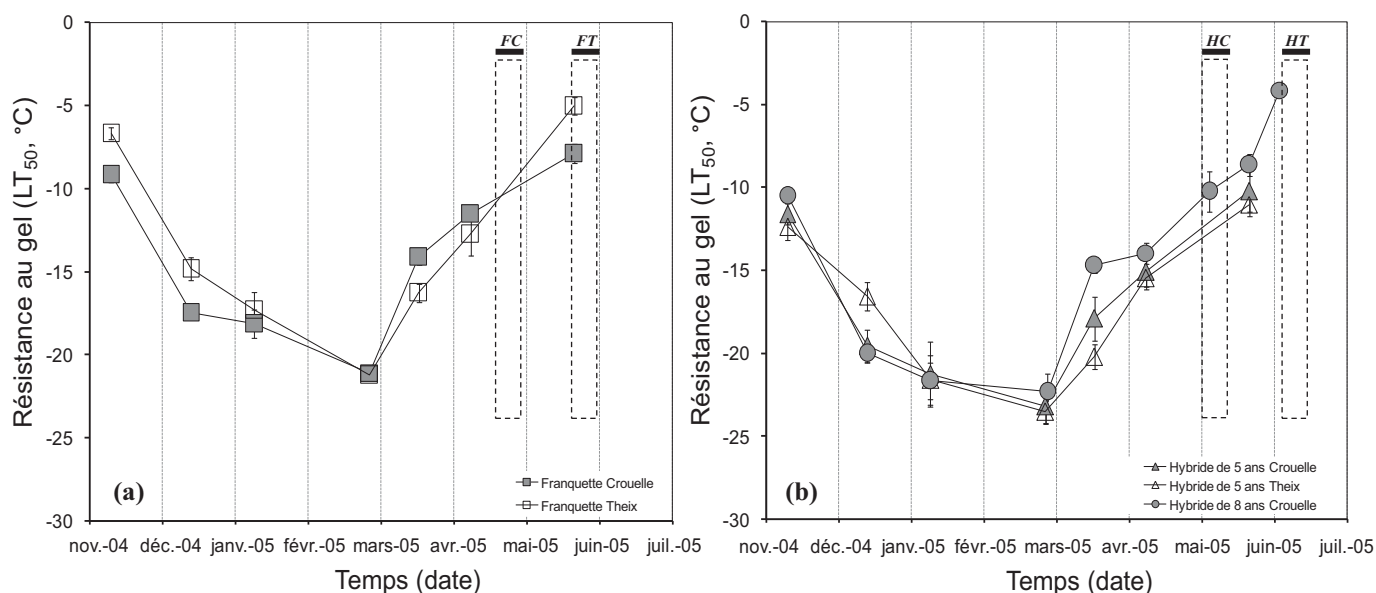


Figure II.3 : Variation au cours du temps de la résistance au gel des rameaux d'un an, pour 2 cultivars de noyer ('Franquette' (F) (a) et Hybride NG38 (H) (b)) sur 2 sites expérimentaux (Crouelle (C) et Theix (T)). L'échantillonnage a été réalisé du 8 novembre 2004 au 24 mai 2005. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard (n = 5). Les barres horizontales et les rectangles en pointillé indiquent les périodes de débourrement des arbres.

Contrairement à Franquette, les niveaux de résistance au gel des hybrides NG38, entre les deux sites, ne sont pas significativement différents sur la période d'étude. On observe pour l'hybride NG38, en novembre, aucune différence significative d'endurcissement au gel entre

les deux sites (Theix : $-12,4 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$; Crouelle : $-11,6 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$; $P = 0,602$) (*figure II.3 (b)*). Sur la période d'étude, en décembre, on observe une différence significative ($P = 0,047$) entre les arbres hybrides de 5 ans de Theix et ceux de Crouelle. Ceci peut être dû à une chute brutale des températures sur le site de Crouelle (*figure II.1 (a) et II.2 : inversion thermique entre les deux sites*). Pour les autres dates de prélèvements, il n'y a pas de différence significative dans la variation d'endurcissement des hybrides de Theix et ceux de Crouelle ($P > 0,05$). Le niveau maximal de résistance au gel n'est pas significativement différent entre les sites (Theix : $LT_{50} = -23,5 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$, Crouelle : $LT_{50} = -23,3 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, $P = 0,917$). D'autre part, sur le site de Crouelle, où nous avons des NG38 âgés de 5 ans et de 8 ans, le niveau d'endurcissement et de désendurcissement au gel n'est pas significativement différent en fonction de l'âge (pour toutes les dates, $P > 0,05$, en mars $P = 0,07$). La capacité des arbres à résister au gel ne semble donc pas être influencée par l'âge.

Pour conclure, quel que soit le lieu de culture étudié, les noyers hybrides sont les arbres les plus résistants au gel. L'évolution de la résistance au gel est étroitement liée à l'évolution des températures de l'air. Les températures douces accélèrent le désendurcissement. Pour la variété Franquette, malgré des niveaux de résistance au gel différents sur les deux sites au début et à la fin de la période d'étude, qui semble lié aux températures de l'air, le niveau maximal de résistance au gel (en février) est le même. Pour NG38, les deux lieux de culture ne permettent pas de mettre en évidence des différences dans l'évolution de la résistance au gel. De plus, chez les hybrides, l'âge n'a pas d'effet sur la dynamique de résistance au gel.

2.1.3 Variation au cours du temps de l'humidité pondérale des rameaux de l'année

Le suivi de l'humidité pondérale, du 12 décembre 2004 au 24 mai 2005, est présenté sur la *figure II.4*. En décembre, le rameau d'un an de Franquette montre une plus haute humidité pondérale sur le site de Theix que sur le site de Crouelle (*figure II.4 (a)*). Ce point correspond au moment de l'inversion thermique entre les deux sites. La température est alors plus basse en plaine qu'en montagne. Ensuite, l'humidité pondérale continue de diminuer et atteint une valeur moyenne de $0,82 \pm 0,02$ au début du mois de janvier et reste stable jusqu'en avril. Sur cette période, la valeur ne varie pas de manière significative sur le site de Theix ($P > 0,05$). Sur le site de Crouelle, on observe une augmentation significative de l'humidité

pondérale du rameau entre le 28 février et le 21 mars ($P = 0,016$), en lien avec des températures minimales plus douces sur le site de Crouelle (figure I.1 (a)). Au printemps, elle augmente fortement avec la reprise de la croissance (figure II.4 (a)).

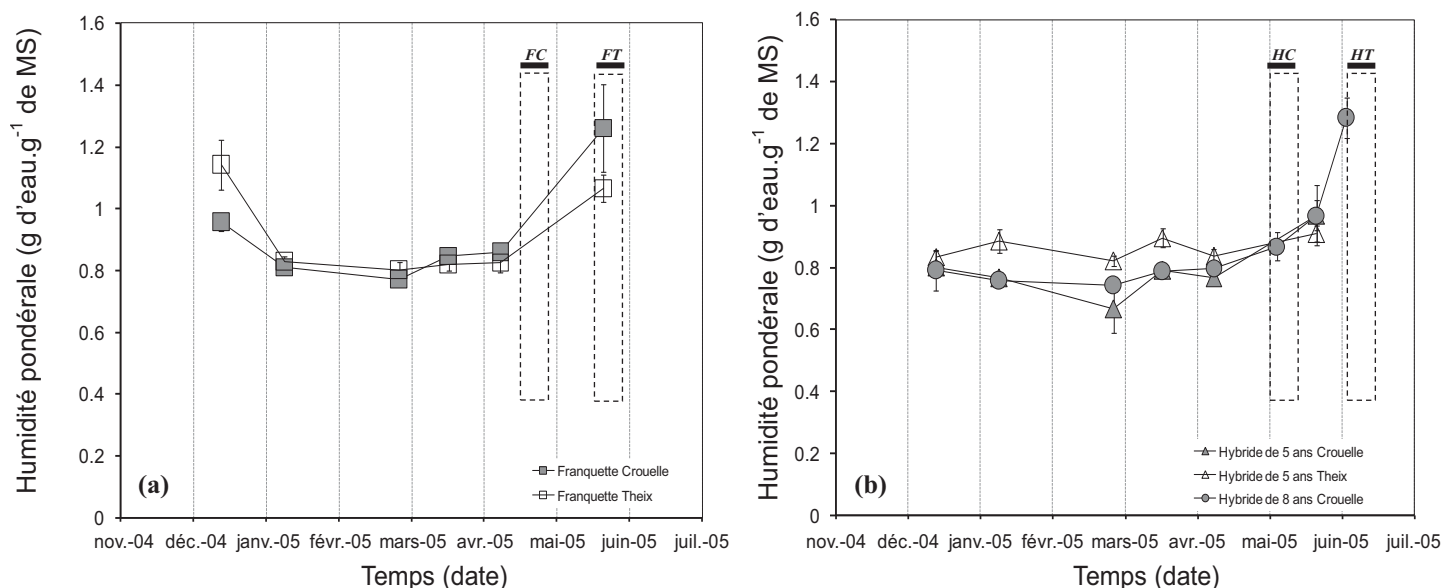


Figure II.4 : Variation au cours du temps de l'humidité pondérale des rameaux d'un an, pour 2 cultivars de noyer ('Franquette' (F) (a) et Hybride NG38 (H) (b)) sur 2 sites expérimentaux (Crouelle (C) et Theix (T)). L'échantillonnage a été réalisé du 12 décembre 2004 au 24 mai 2005. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard ($n = 5$). Les barres horizontales et les rectangles en pointillé indiquent les périodes de débourrement des arbres.

Sur le site de Crouelle, les rameaux d'un an des hybrides de 5 ans et ceux de 8 ans ne présentent pas de différence significative d'humidité pondérale. Sur le site de Theix, de décembre à mai, l'humidité pondérale de ces arbres varie peu au cours de la période d'étude (figure II.4 (b)). De plus, entre janvier et avril, l'Hp sur Theix est significativement supérieure à celle de Crouelle, ceci pourrait s'expliquer par des conditions évaporantes plus faibles à Theix qu'à Crouelle avec, de plus, une pluviométrie plus importante sur Theix (somme des précipitations entre janvier et avril : Theix = 205 mm et Crouelle = 179 mm, $P < 0,05$).

2.1.4 Variation au cours du temps des teneurs en glucides (sucres solubles et amidon) des rameaux de l'année

Pour l'ensemble des échantillons (cultivar Franquette et NG38 des sites de Crouelle et Theix), une interconversion significative ($P < 0,05$) entre l'amidon et les sucres solubles (GFS) a été observée durant l'hiver (figure II.5). Pour les deux cultivars, l'évolution des glucides est influencée par le lieu de culture et la phénologie. Lorsque la température de l'air augmente (au début du mois de mars, figure II.1), l'amidon est re-synthétisé à partir du pool de sucres solubles car les teneurs en glucides totaux ne sont pas significativement différentes ($P > 0,11$) entre février et avril (figure II.5 (c) et (d)).

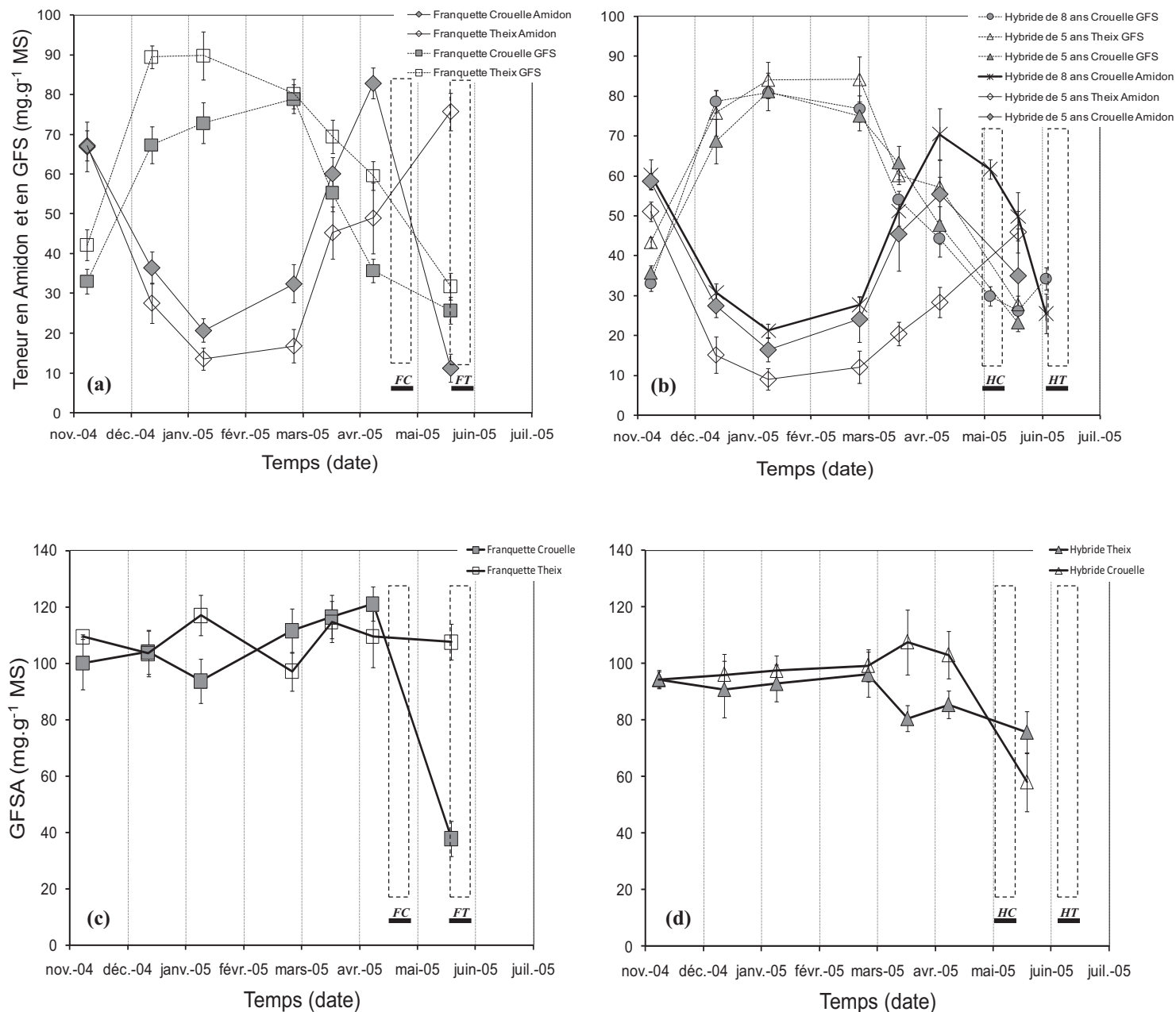


Figure II.5 : Variation au cours du temps de la teneur en sucres solubles (GFS : Glucose, Fructose et Saccharose), en Amidon (a et b) et en GFSA (c et d) pour 2 cultivars de noyer (a et c : Franquette (F) et b et d : Hybride NG38 (H)) sur 2 sites expérimentaux (Crouelle (C) et Theix (T)) pour le rameau d'un an. L'échantillonnage a été réalisé du 8 novembre 2004 au 24 mai 2005 pour les arbres de 5 ans et du 8 novembre 2004 au 8 juin 2005 pour les arbres de 8 ans. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard (n=5). Les barres horizontales et les rectangles en pointillés indiquent les périodes de débourrement des arbres.

En novembre, pour le cultivar Franquette (*figure II.5 (a)*), la teneur en amidon des rameaux de l'année des arbres de Crouelle n'est pas significativement différente ($P = 0,917$) de celle des arbres plantés sur le site de Theix. On note, par contre, une teneur en sucres solubles significativement plus élevée sur le site de Theix de décembre à janvier (13 décembre 2004 : $P = 0,016$; 10 janvier 2005 : $P = 0,047$). Cette teneur en sucres solubles, plus élevée en décembre sur Theix, ne semble pas être liée au niveau d'endurcissement, qui lui, est plus fort sur le site de Crouelle (13 décembre 2004 : $P = 0,009$). Juste avant le débourrement, en avril, la teneur en amidon est élevée sur le site de Crouelle. Elle atteint une valeur moyenne de $82,9 \pm 3,8 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS. Le mois suivant, cette valeur décroît rapidement à $11,3 \pm 3,5 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS après le débourrement des bourgeons. Pour le site de Theix, nous n'observons pas cette diminution de la teneur en amidon en mai. Le mois de décalage entre les dates de débourrement des deux sites (Crouelle : mi-avril ; Theix : mi-mai) semble être corrélé au retard dans la consommation d'amidon et aux températures de l'air plus froide sur le site de Theix (par rapport à Crouelle). La resynthèse d'amidon dans les rameaux de l'année au printemps, avant la chute des pools d'amidon et de sucres solubles du post-débourrement, s'en retrouve ainsi décalée.

La *figure II.5 (b)* montre les mêmes évolutions pour les noyers hybrides (NG38) sur les deux sites expérimentaux (Theix et Crouelle). Sur le site de Crouelle, la dynamique des différents glucides (GFS et amidon) est la même pour les arbres âgés de 5 ans et ceux âgés de 8 ans (pour toutes les dates, différence non significatif, $P < 0,05$). La date de débourrement des hybrides est également plus précoce sur le site de Crouelle (début-mai) par rapport au site de Theix (début-juin) en liaison avec les températures des deux sites (*figure II.1 (a)*). En octobre (ce point n'est pas indiqué sur la *figure II.5 (b)*), la teneur en amidon n'est pas significativement différente entre les deux sites expérimentaux ($P > 0,05$). En novembre, nous pouvons observer un retard de l'hydrolyse de l'amidon sur le site de Crouelle ; les teneurs en amidon sur les deux sites sont significativement différentes ($P = 0,047$). A partir du mois de décembre, l'évolution des teneurs en sucres solubles n'est pas significativement différentes entre les deux sites ($P > 0,05$). Pour les teneurs en amidon, de décembre à la fin du mois de février, la différence entre les deux sites n'est pas significative ($P > 0,05$). A l'opposé, de mars à avril, une différence significative entre les teneurs en amidon des arbres hybrides des deux sites est observée (21 mars 2005 : $P = 0,016$; 12 avril 2005 : $P = 0,016$). On retrouve là encore une différence entre les teneurs en amidon des deux sites en lien avec les dates de débourrement.

Tableau II.2 : Résultats des analyses de la covariance. (GFS : sucres solubles : glucose, fructose et saccharose ; $T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$: moyenne des températures minimales journalières sur 15 jours qui précèdent le prélèvement (le jour de prélèvement : n=0 jours) ; Hp : Humidité pondérale). Le carré du coefficient de corrélation entre le LT_{50} et les différentes variables est indiqué.

Variables dépendantes	ANCOVA		Régression linéaire	
	Sources de variation	Pr > F	R ² ANCOVA	R ²
LT_{50} n = 28	GFS	< 0,0001	0,883	LT_{50} vs. GFS 0,725
	Lieu	0,720		
	Variété	0,166		
	GFS × Lieu	0,881		
	GFS × Variété	0,672		
	GFS × Variété × Lieu	0,062		
LT_{50} n = 16	GFS	< 0,0001	0,899	0,873
	Age	0,227		
	GFS × Age	0,458		
LT_{50} n = 16	GFS	< 0,0001	0,929	0,929
	Précoce	0,218		
	GFS × Précoce	0,123		
LT_{50} n = 28	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$	< 0,001	0,884	LT_{50} vs. $T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$ 0,689
	Lieu	0,004		
	Variété	0,002		
	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j} \times \text{Lieu}$	0,479		
	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j} \times \text{Variété}$	0,375		
	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j} \times \text{Variété} \times \text{Lieu}$	0,302		
LT_{50} n = 16	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$	< 0,0001	0,902	0,890
	Age	0,623		
	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j} \times \text{Age}$	0,614		
LT_{50} n = 16	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$	< 0,0001	0,838	0,791
	Précocité	0,638		
	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j} \times \text{Précocité}$	0,124		
LT_{50} n = 24	Hp	0,052	0,514	LT_{50} vs. Hp 0,411
	Lieu	0,992		
	Variété	0,172		
	Hp × Lieu	0,772		
	Hp × Variété	0,217		
	Hp × Variété × Lieu	0,217		
LT_{50} n = 14	Hp	0,001	0,762	0,749
	Age	0,504		
	Hp × Age	0,534		
LT_{50} n = 14	Hp	0,007	0,677	0,606
	Précocité	0,229		
	Hp × Précocité	0,216		

Tableau II.3 : Résultats des régressions linéaires (pour la légende cf. tableau II.2 ci-dessus). Les résultats figurant dans ce tableau correspondent à des SCE de type I (l'ordre d'entrée des variables explicatives est important).

Variables dépendantes	Sources de variation	SCE type I Pr > F	SCE type III Pr > F	R ² régression linéaire
LT_{50} n = 28 (4×7)	GFS	< 0,0001	0,008	0,766
	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$	0,047	0,047	
LT_{50} n = 28 (4×7)	$T^{\circ}C \min_{\text{moy } 15j}$	< 0,0001	0,047	0,766
	GFS	0,008	0,008	

2.2 Mise en évidence des corrélations entre LT₅₀ et les variables mesurées

Au sein de l'échantillonnage, certains arbres se démarquaient de la moyenne pour leur date de débourrement (hybrides précoces et tardifs). Nous avons également des hybrides d'âges différents (hybrides de 5 ans et de 8 ans). Les résultats des différentes analyses de la covariance sont regroupés dans le *tableau II.2*. Ils montrent que, pour nos prélèvements, la précocité du débourrement et l'âge des arbres n'ont pas d'effets significatifs sur les relations entre le LT₅₀ et la teneur en glucides, entre le LT₅₀ et la moyenne des températures minimales, ainsi qu'entre le LT₅₀ et l'humidité pondérale. Par conséquent, pour l'étude des relations entre le LT₅₀ et les variables précédemment citées, l'ensemble des données des hybrides NG38 du site de Crouelle (NG38 de 8 ans, NG38 à débourrement précoce et tardif de 5 ans) ont été réunies. Ainsi, pour NG38 et à chaque date, nous travaillerons sur un effectif de 15 individus pour Crouelle contre 5 individus pour Theix.

2.2.1 Corrélation entre le LT₅₀ et la teneur en sucres solubles

La température de résistance au gel des rameaux de l'année est corrélée négativement avec la teneur en sucres solubles ($P < 0,0001$, $n = 28$) (*tableau II.2*).

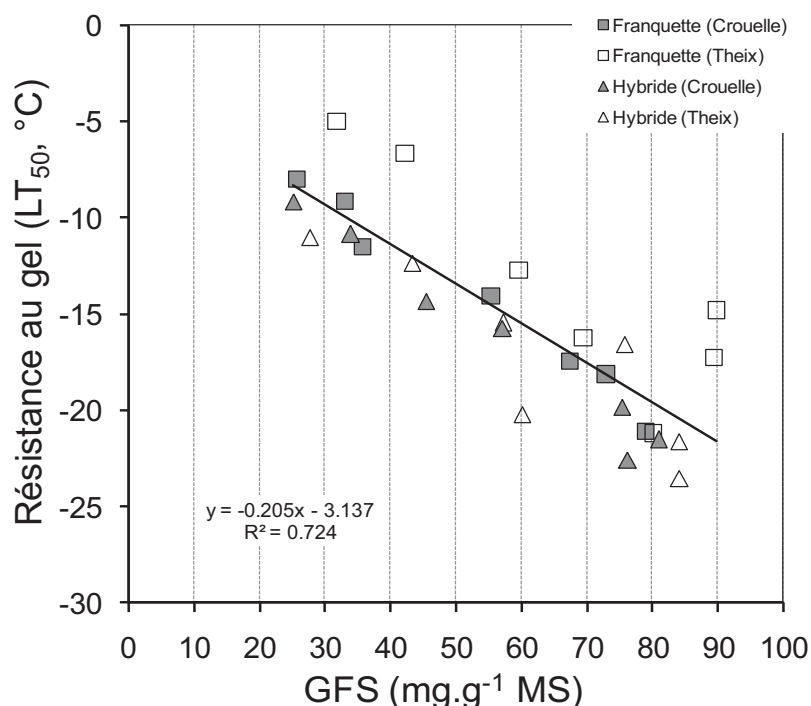


Figure II.6 : Représentation graphique de la corrélation entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles (GFS) des rameaux de l'année. L'échantillonnage a été fait entre le 8 novembre 2004 et le 24 mai 2005 (pour chaque population, $n=7$ dates).

L'analyse de la covariance indique qu'il n'y a ni interactions, ni effets principaux des variables lieux et variétés ($P > 0,05$, interactions et effets principaux). Par conséquent, les pentes et les ordonnées à l'origine des droites de régression linéaire ne sont pas significative-

Nombre de jours avant prélèvement	R^2	Nombre de jours avant prélèvement	R^2
0	0,4848	20	0,6789
1	0,4494	21	0,6697
2	0,4531	22	0,6678
3	0,526	23	0,6698
4	0,5224	24	0,6579
5	0,5572	25	0,649
6	0,5709	26	0,6449
7	0,6118	27	0,6432
8	0,6138	28	0,6524
9	0,6099	29	0,6589
10	0,6135	30	0,6634
11	0,638	31	0,6289
12	0,65	32	0,6297
13	0,67	33	0,6277
14	0,6853	34	0,6275
15	0,6891	35	0,623
16	0,6816	36	0,6178
17	0,6776	37	0,6173
18	0,6784	38	0,6075
19	0,6815	39	0,599
		40	0,5909

Tableau II.4 : Coefficients de détermination (R^2) de la relation entre la résistance au gel et la moyenne des températures minimales journalières sur x jours avant le prélèvement des rameaux de l'année (de x=0 à x=40) de Noyer.

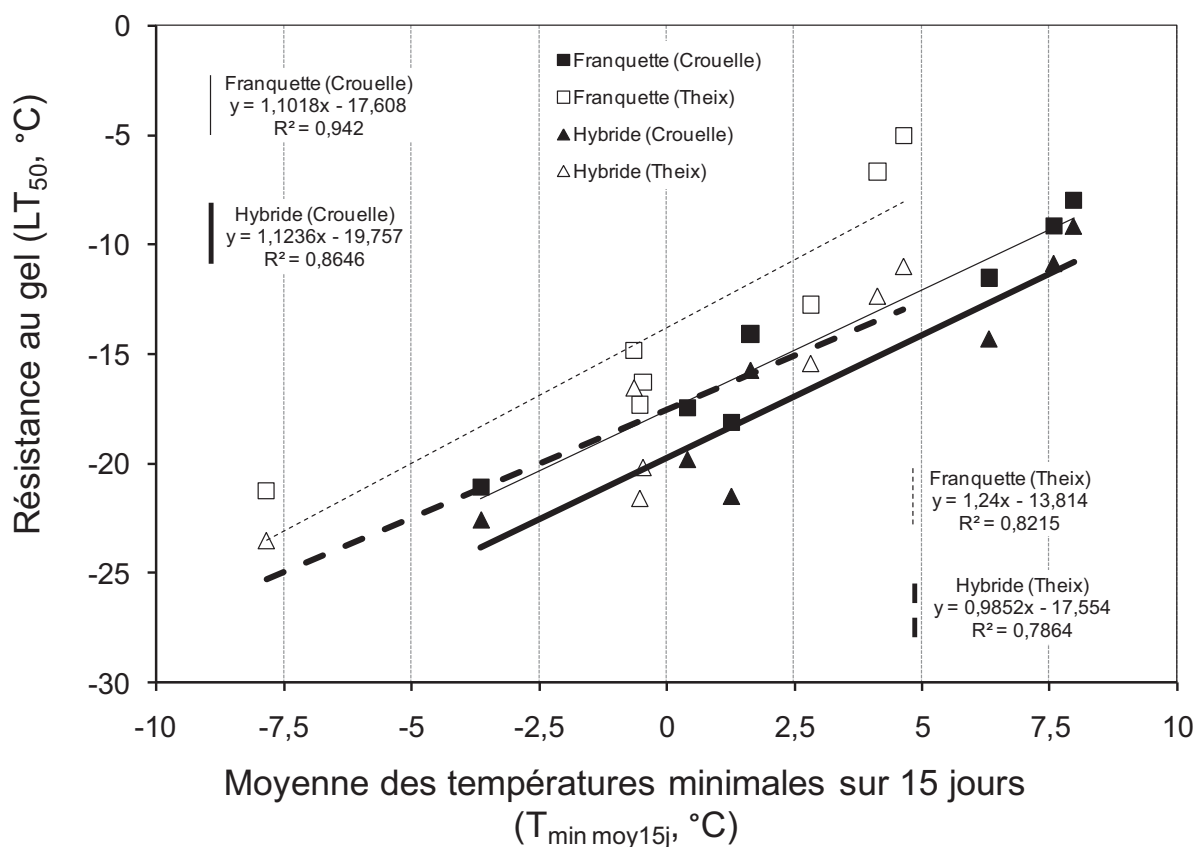


Figure II.7 : Représentation graphique de la corrélation entre la résistance au gel et la moyenne des températures minimales journalières sur 15 jours avant le prélèvement des rameaux de l'année. L'échantillonnage a été réalisé entre le 8 novembre 2004 et le 24 mai 2005 (pour chaque population, n=7 dates).

ment différentes entre le site de Theix et le site de Crouelle, ainsi que pour les deux cultivars étudiés. Ceci suggère que la relation entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles est conservée sur les deux sites et pour les deux cultivars étudiés. Autrement dit, une seule droite de régression linéaire peut être utilisée pour décrire la relation entre le LT_{50} et la teneur en sucres solubles (*figure II.6*). Si on sépare les deux variétés, cette relation est conservée (régression linéaire : $r^2_{\text{Franquette}} = 0,73$; $r^2_{\text{Hybride}} = 0,88$; ANCOVA : $r^2_{\text{Franquette}} = 0,86$; $r^2_{\text{Hybride}} = 0,89$; $P < 0,0001$ pour les deux variétés, pas d'effet direct du lieu, ni d'interaction entre la teneur en sucres solubles et le lieu).

2.2.2 Corrélation entre le LT_{50} et les températures minimales journalières

La meilleure corrélation entre le LT_{50} et les températures de l'air ($T^{\circ}\text{C min}$, $T^{\circ}\text{C max}$, $T^{\circ}\text{C moy}$ ou Amplitude thermique) est obtenue avec la température minimale ($r^2_{LT_{50}-T^{\circ}\text{Cmin}} = 0,48$, $P < 0,0001$; $r^2_{LT_{50}-T^{\circ}\text{Cmax}} = 0,24$, $P < 0,009$; $r^2_{LT_{50}-T^{\circ}\text{Cmay}} = 0,34$, $P < 0,01$; $r^2_{LT_{50}-\text{Amp. therm.}} = 0,007$, $P = 0,68$) pour le Noyer. Il est possible d'améliorer cette relation en tenant compte des températures subies par le rameau. Le *tableau II.4* présente l'ensemble des coefficients de détermination de cette relation, du jour de prélèvement ($j = 0$) au 40^{ème} jour avant l'échantillonnage ($j = 0 + 40$). La meilleure corrélation entre la température de résistance au gel et les températures minimales de l'air a été trouvée avec la moyenne des températures minimales journalières sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement ($j = 0 + 15$) (*tableau II.4*).

En tenant compte de ces spécificités, la température de résistance au gel est positivement corrélée avec la moyenne des températures minimales journalières sur 15 jours avant le prélèvement ($P < 0,0001$, $n = 28$) (*tableau II.2*). L'analyse de la covariance indique que les pentes des droites de régression linéaire ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$, pour les interactions). Ce qui suggère que le site et la variété n'influent pas sur la relation entre la température de résistance au gel et les températures minimales journalières moyennées sur 15 jours avant le prélèvement. Le *tableau II.2* montre, de plus, qu'il existe un effet direct de la variété et du site sur le LT_{50} ($P = 0,002$ et $P = 0,004$, respectivement). La courbe de régression linéaire décrivant la meilleure relation entre la température de résistance au gel et la moyenne des températures minimales journalières sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement des deux sites et pour les deux cultivars étudiés, est montrée par la *figure II.7*.

Les résultats du *tableau II.3* indiquent que quel que soit l'ordre d'entrée des variables « teneur en GFS » et « $T^{\circ}\text{C min moy/15j}$ », leur effet dans les relations $LT_{50} = f(\text{GFS}, T^{\circ}\text{C min})$

moy/15j) ou $LT_{50} = f(T^{\circ}C_{\min \text{ moy/15j}}, \text{GFS})$ reste significatif. L'effet observé de la variable « teneur en GFS » n'est donc pas lié qu'à la variable température.

2.2.3 Corrélation entre le LT_{50} et l'humidité pondérale

La température de résistance au gel est faiblement et positivement corrélée avec l'humidité pondérale ($P = 0,052$, $n = 24$). L'analyse de la covariance (*tableau II.2*) indique que les pentes et les ordonnées à l'origine des droites de régression linéaire ne sont pas significativement différentes ($P > 0,10$, interactions et effets principaux) entre les deux sites et les deux cultivars. Ces données suggèrent donc que la relation entre le LT_{50} et l'humidité pondérale des rameaux de l'année est conservée sur les différents sites et pour les deux variétés étudiées. Autrement dit, là encore, une seule droite de régression linéaire peut être utilisée pour représenter la relation entre le LT_{50} et l'humidité pondérale (*figure II.8*).

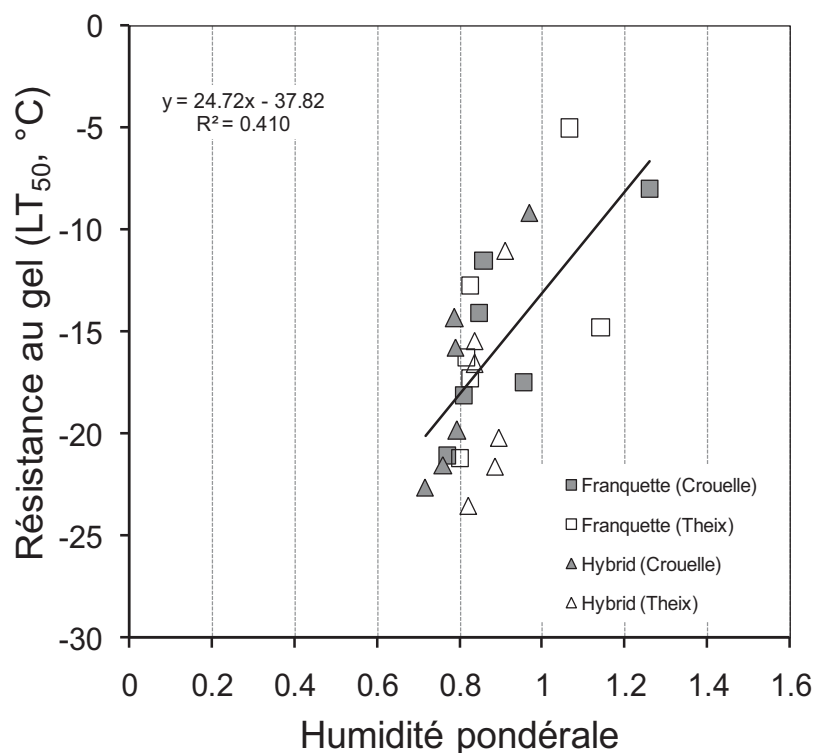


Figure II.8 : Représentation graphique de la corrélation entre la résistance au gel et l'humidité pondérale des rameaux de l'année. L'échantillonnage a été fait entre le 12 décembre 2004 et le 24 mai 2005 (pour chaque population, $n=6$ dates).

2.3 Tentative de modélisation de la résistance au gel

Les résultats précédents ont été utilisés pour développer un modèle simple permettant de décrire les changements annuels de résistance au gel du rameau d'un an chez le noyer adulte en conditions naturelles. L'étude des corrélations nous a permis de montrer que les teneurs en sucres solubles, l'humidité pondérale et la moyenne des températures minimales

journalières sur 15 jours avant le prélèvement pouvaient expliquer l'évolution de la résistance au gel des noyers adultes au cours de l'année. Nous avons également montré que la variété était déterminante pour la résistance au gel.

Dans cette partie, nous proposons de modéliser l'endurcissement au gel à partir de deux facteurs physiologiques (teneurs en sucres solubles et humidité pondérale), un facteur environnemental (moyenne des températures minimales journalières de l'air précédant le prélèvement selon le site) et la variété. Nous montrerons également que les variables utilisées dans le modèle ont un effet significatif dans l'ajustement.

2.3.1 Calibration du modèle

En tenant compte de l'analyse de la covariance précédente, la relation, ci-dessous, estime le niveau de résistance au gel des rameaux d'un an de noyers :

$$LT_{50} = -17,961 - 0,108 \times [GFS] + 0,411 \times T^{\circ}C_{\min \text{ moy}/15j} \times 7,990 \times Hp + 2,232 \times [0 = \text{Hybride} ; 1 = \text{Franquette}]$$

avec :

- la teneur en sucres solubles ($[GFS]$: glucose, fructose, saccharose) en $mg.g^{-1}$ de MS,
- l'humidité pondérale (Hp) en $g.g^{-1}$ de MS et
- la moyenne des températures minimales journalières de l'air sur 15 jours avant le prélèvement ($T^{\circ}C_{\min \text{ moy}/15j}$).

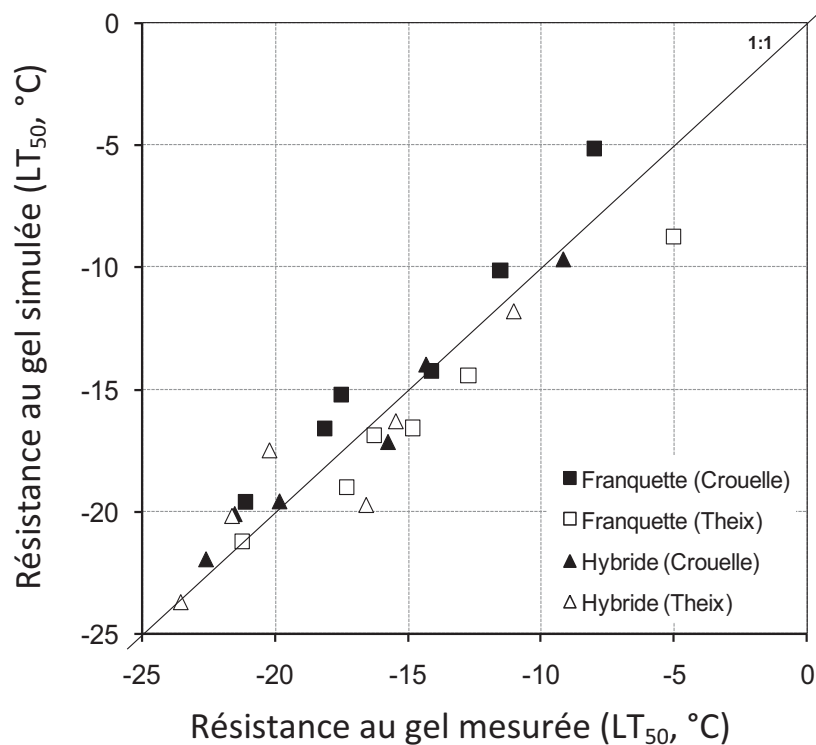
Ainsi, ce modèle nécessite la prise en compte d'un effet variété. Il explique la variance observée ($r^2 = 0,876$, $P < 0.0001$) avec un effet significatif de la teneur en sucres solubles ($P = 0,004$), de la moyenne des températures minimales journalières 15 jours avant l'échantillonnage ($P = 0,024$), de l'humidité pondérale ($P = 0,049$) et de la variété ($P = 0,015$). Le coefficient de détermination r^2 de 0,876 confirme que le modèle linéaire est vraisemblable. La figure II.9 montre la relation entre les valeurs mesurées et les valeurs prédites par le modèle. L'analyse statistique du modèle (tableau II.5) indique un très bon indice de conformité ($d = 0,966$) et un RMSE satisfaisant de 1,69.

Tableau II.5 : Analyse statistique du modèle.

	<i>n</i>	<i>RMSE (°C)</i>	<i>Indice de conformité (d)</i>
Calibration du modèle	24	1,69	0,966
	<i>n</i>	<i>RMSEP (°C)</i>	<i>Indice de conformité (d)</i>
Validation du modèle			
2002-2003	6	2,77	0,825
2004-2005	7	1,86	0,964
2005-2006	9	3,48	0,904

(*n* = nombre d'échantillons)

Figure II.9 : Représentation graphique de la relation entre la résistance au gel simulée par le modèle et la résistance au gel mesurée. La droite '1:1' représente la parfaite concordance entre les valeurs simulées et celles mesurées.



2.3.2 Validation du modèle

La qualité du modèle a ensuite été testée en étudiant sa conservation sur plusieurs années à partir de données indépendantes, non utilisées pour la calibration, issues d'arbres adultes en conditions naturelles. La *figure II.10* expose les résultats obtenus après simulation.

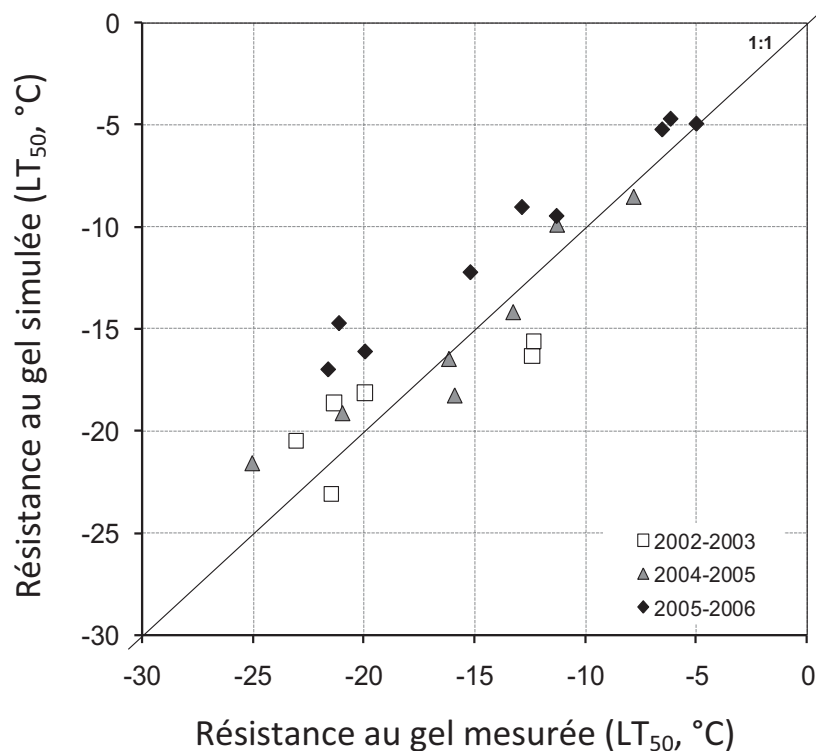


Figure II.10 : Conservation du modèle. La droite '1:1' représente la parfaite concordance entre les valeurs simulées et celles mesurées. Les données employées dans la validation du modèle n'ont pas été utilisées dans la calibration (2002-2003 et 2004-2005 : hybrides NG38 et 2005-2006 : variété Franquette).

L'analyse statistique indique de bons indices de conformité (*d*) sur les trois années d'étude (*tableau II.5*). Les RMSEP sont satisfaisants. Ainsi, le modèle se conserve d'une année à l'autre. De plus, l'erreur absolue moyenne (MAE) entre les valeurs prédites par le modèle et celles mesurées est de 1,7°C et l'erreur absolue maximale (maxAE) est de 4,9°C. On peut également remarquer que les données de 2005-2006 obtenues sur des noyers Franquette sont systématiquement au dessus de la droite 1:1.

Discussions

Choix des variables

Nous avons tout d'abord choisi de prendre la variable « température ». Ce facteur environnemental joue un rôle important dans le processus de résistance au gel. En effet, de nombreux travaux montrent que l'évolution des températures de résistance au gel est fortement liée à l'évolution des températures de l'air, que ce soit durant la phase d'endurcissement (Irving et Lanphear, 1967 ; Howell et Weiser, 1970 ; Sakai et Larcher, 1987) ou de désendurcissement (Kalbere *et al*, 2007). Elle est également utilisée comme variable conductrice dans d'autres modèles de prédiction de la température de résistance au gel (Repo *et al*, 1990 ; Leinonen *et al*, 1995 ; Leinonen *et al*, 1996). Ensuite, nous avons opté pour l'utilisation de la variable « humidité pondérale ». Cette variable permet de prendre en compte le contenu en eau de l'organe considéré. Certains travaux ont montré l'existence d'une liaison, certes faible mais significative, entre la température de la résistance au gel et l'humidité pondérale (Chen *et al* cité par Parsons, 1978). Les variables « température » et « humidité pondérale » nous permettent de prendre en compte l'histoire climatique à court terme. Enfin, la variable « teneur en sucres solubles » a été retenue car de nombreuses études mettent en avant l'existence d'une liaison entre l'évolution de cette teneur et la température de résistance au gel (Bolat, 1995 ; Leuborgne *et al*, 1995 ; Jones *et al*, 1999 ; Tinus *et al*, 2000 ; Morin *et al*, 2007). Grâce à cette variable, on pourra prendre en compte l'état physiologique actuel dépendant de l'histoire passée des arbres, en particulier les phénomènes extrêmes climatiques se produisant durant l'été (ex. sécheresse, défoliation, carence minérale, ...).

Le rôle des glucides dans l'endurcissement au gel

L'endurcissement au gel des plantes est très souvent accompagné d'une disparition de l'amidon et d'une augmentation de la quantité de sucres solubles dans les tissus (Levitt, 1980). Ceci reflète une adaptation des végétaux pour maintenir les propriétés osmotiques du milieu intracellulaire. Chez *Juglans regia* L., la teneur en sucres solubles augmente du mois de novembre au mois de janvier. Ces résultats sont en accord avec d'autres études réalisées auparavant (Siminovitch *et al*, 1953 ; Kramer et Kozlowski, 1979b ; Frossard et Lacoïnte, 1988 ; Palonen *et al*, 2000 ; Améglio *et al*, 2004 ; Morin *et al*, 2007). L'endurcissement au gel est ainsi négativement corrélé à la teneur en sucres solubles (*figure II.6*). Nos résultats montrent également que le maximum de résistance au gel coïncide avec la teneur maximale en sucres solubles mesurée (*figure II.3 et II.5*). Ainsi, au moment où le risque de dommages liés au gel est maximal (pour notre étude, en février), une grande quantité d'amidon est hydrolysée en sucres solubles. A l'inverse, lorsque le risque est limité, la teneur en sucres solubles est plus faible. Ceci suggère une utilisation des sucres solubles dans des processus qui n'ont pas de rapport avec la croissance, mais avec la survie des arbres. Les mêmes résultats ont été trouvés sur *Quercus sp.* (Morin *et al*, 2007). Par contre, bien que les teneurs en sucres solubles soient plus élevées pour les arbres du site de Theix (*figure II.5*), la résistance au gel n'est pas significativement supérieure à celle des arbres du site de Crouelle (*figure II.3*). La teneur en sucres solubles n'est donc pas le seul paramètre qui explique la résistance au gel. La différence de teneur en sucres solubles entre Crouelle et Theix peut s'expliquer par une mobilisation plus importante des réserves amylacées sur le site le plus froid (Sauter *et al*, 1988). Un des effets possibles des sucres solubles est l'ajustement osmotique (abaissement du point de congélation) pour contribuer à prévenir la cristallisation du milieu intracellulaire. L'accumulation des sucres solubles dans les tissus des arbres endurcis durant l'hiver permet d'augmenter la viscosité du milieu intracellulaire. Ainsi, une augmentation de la teneur en sucres solubles abaisse le point de congélation du liquide intracellulaire de 1,86°C par mole de solutés dissous dans 1 litre d'eau (Deureddre et Gazeau, 1992). Cette propriété ne permet d'expliquer, au plus, qu'une augmentation de la résistance au gel de 1 à 2 °C, ce qui est bien inférieure à ce qui est mesurée (Sakai, 1966 ; Sauter *et al*, 1996). Par ailleurs, si on regarde l'augmentation de la résistance au gel (ΔLT_{50} entre la T°C la plus basse et la plus haute) et l'augmentation de la teneur en GFS correspondante (ΔGFS), on ne peut pas expliquer l'une par l'autre (*tableau II.6*).

Tableau II.6 : ΔLT_{50} et ΔGFS correspondantes pour les deux variétés sur les deux sites.

Variété/Lieu	ΔLT_{50} (en °C)	ΔGFS (en mg.g ⁻¹ de MS)
Franquette/Crouelle	-13,1	+53,2
Franquette/Theix	-16,2	+48,4
Hybride/Crouelle	-13,4	+51,1
Hybride/Theix	-12,5	+56,4

Donc, l'effet osmotique doit être complété par d'autres mécanismes, comme l'effet protecteur proposé par Hoekstra *et al.* en 2001.

Impact de l'humidité pondérale sur l'endurcissement au gel

Notre étude a permis de mettre en évidence une corrélation faible ($r^2 = 0,41$), mais néanmoins significative entre la diminution de l'humidité pondérale et l'endurcissement (*figure II.8*). Cette corrélation se retrouve également chez le cornouiller (pour une résistance au froid comprise entre -6°C et -12°C) (Chen *et al.*, 1975 cité par Parsons, 1978). Cette diminution de l'humidité pondérale traduit une variation du stock d'eau dans le rameau, liée à une évaporation de l'eau du rameau sans feuille (par l'écorce et les bourgeons) supérieure à la quantité d'eau entrant dans ce dernier. Améglio *et al.* (2001c) montrent chez *Juglans regia* L. qu'au cours d'un cycle de gel/dégel, l'humidité pondérale du rameau diminuait de 12%. D'autre part, nous savons qu'une température basse du sol réduit les capacités d'absorption de l'eau par les plantes (Kramer, 1940). On peut donc considérer qu'en conditions hivernales, les températures froides du sol diminuent et bloquent en partie les capacités d'absorption de l'eau, alors que la déshydratation par évaporation continue, en particulier lors des journées sèches. Dans ces conditions, lorsque les températures deviennent basses, le rameau diminue ses quantités d'eau, puis dans un second temps, lorsque les températures augmentent, en particulier au niveau du sol, l'absorption redémarre et une réhydratation de l'arbre se réalise alors (Ewers *et al.*, 2001). Améglio *et al.* (2002) ont montré chez le noyer que cette réhydratation se produit lorsque les températures du sol à 50 cm de profondeur sont supérieures à +7°C environ.

Quel peut être l'impact de la chute d'humidité pondérale sur la résistance au froid ? On pense principalement à une limitation des effets mécaniques liés à l'augmentation de volume lors du changement d'état de l'eau entre phases liquide et solide. Ainsi, la réduction de la quantité d'eau à l'intérieur des tissus de la plante ne peut être que bénéfique pour limiter les effets mécaniques liés à des ruptures de tissus lors de ce changement d'état. Les mesures

de variations de diamètre (Améglio *et al*, 2001), comme nos propres mesures de GélistaTM (*cf. chapitre I : méthode GélistaTM*) illustrent bien des changements de volume, en particulier pour les rameaux non encore endurcis, où l'on observe un gonflement des tissus contrairement aux rameaux endurcis.

On peut alors considérer, que les températures froides, du sol en particulier, aident, en bloquant l'absorption hydrique, la déshydratation de la partie aérienne de l'arbre qui est soumise à des fluctuations thermiques importantes. Elles favoriseraient ainsi la résistance au gel. A l'inverse, lorsque les températures sont plus douces (*figure II.1*), l'absorption de l'eau et des nutriments est de nouveau possible, ce qui expliquerait l'augmentation de l'humidité pondérale de nos rameaux à cette période de l'année (*figure II.4*) et donc la diminution des capacités de résister à des prises en glace dommageables pour les tissus. On a également remarqué que l'humidité pondérale est plus forte sur le lieu où les précipitations sont les plus grandes (Theix). L'humidité pondérale jouerait en sens contraire de l'effet de la teneur en sucres solubles sur la résistance au froid.

Impact des températures sur l'endurcissement au gel

L'effet des températures sur l'endurcissement au gel des plantes est assez bien connu (*cf. synthèse bibliographique*). En effet, les basses températures favorisent la résistance au gel alors que les températures plus douces entraînent le désendurcissement des plantes. Nous venons de voir un effet indirect de la température du sol et du blocage de l'absorption hydrique sur l'humidité pondérale de la partie aérienne de l'arbre. Un autre effet est mieux étudié : c'est le rôle des températures sur l'état des réserves glucidiques (Cortes et Sinclair, 1985 ; Sauter, 1988). On parle d'interconversion entre amidon et sucres solubles.

Nos résultats montrent une bonne corrélation entre la résistance au gel et la moyenne des températures minimales journalières plusieurs jours avant le prélèvement ($r^2 = 0,689$). En effet, la réponse de l'arbre aux températures n'est pas instantanée. L'hydrolyse de l'amidon en saccharose passe par plusieurs étapes (*cf. synthèse bibliographique*). Dans la littérature, l'échelle de temps est plutôt de l'ordre de la semaine (Sauter, 1988). Nos essais de suivi sur l'évolution des glucides d'un rameau de l'année de jeunes noyers âgés de 3 ans conditionné à température constante (+5°C) durant plusieurs semaines, montrent qu'une baisse du pool d'amidon est obtenu à partir d'un conditionnement d'une quinzaine de jour (*cf. annexe A3*). Notre étude des corrélations semble traduire ce fonctionnement.

Le niveau d'endurcissement au gel au temps t est donc dépendant de la moyenne des températures minimales qui se sont produites durant une période de quinze jours. L'histoire thermique de la plante est de ce fait importante pour prédire la résistance au gel. Il semble donc intéressant d'étudier spécifiquement l'action des températures sur l'hydrolyse ou la re-synthèse des réserves glucidiques pour mieux prédire cette évolution.

Effet de la phénologie sur la résistance au gel

La phénologie et la résistance au gel sont souvent intimement liées (Kruger et Trappe, 1967 ; Sakai et Larcher, 1987 ; Fitter et Hay, 1987 ; Dereuddre et Gazeau, 1992). Nous observons dans notre étude, des variations de la date de débourrement (1 mois environ) entre la variété Franquette, la plus précoce (*figure II.3*), et la variété hybride. Ces décalages entre les deux variétés sont similaires selon les deux sites d'étude. On peut donc attribuer le retard de débourrement sur Theix (en montagne) principalement aux cumuls des températures chaudes (besoin en chaleur) plus faibles dans cette situation par rapport à la situation de plaine (Crouelle). Le débourrement des arbres va alors être fonction des besoins en froid (pour lever la dormance) ou en chaleur (une fois la dormance levée) de l'espèce. Par exemple, des noyers, soumis à une température toujours supérieure à 15°C dans une serre climatisée, à partir de septembre, octobre, novembre ou décembre, entre en végétation plus tardivement que les témoins restés à l'extérieur (levée de l'état de dormance, besoin en froid) ; le retard est d'autant plus grand que le transfert dans les conditions supérieures à 15°C est réalisé plus précocement. Si ce transfert à 15°C est effectué en janvier, on observe au contraire un débourrement beaucoup plus précoce (accélère l'évolution des bourgeons, besoin en chaleur) (Mauget, 1983). Ainsi, lorsque le climat se radoucit, le débourrement des arbres a tendance à commencer plus tôt. De nombreuses espèces de plantes d'Europe et d'Amérique du nord ont leur date de débourrement et de floraison qui se déroule 1,4 à 3,1 jours plus tôt tous les dix ans depuis 30 - 48 ans (Walther *et al*, 2002) et contribue à augmenter les risques de dommages causés par les gels de printemps sur de jeunes pousses extrêmement sensibles.

On observe également des teneurs en amidon identiques pour les deux sites d'étude, alors que les périodes estivales de croissance sont assez différentes. Ceci peut témoigner d'une adaptation des arbres à leur milieu, mais aussi, d'une certaine homéostasie entre croissance et mise en réserve dans un nouvel organe en formation, le rameau de l'année, en dehors de stress abiotiques caractérisés. En conséquence, ce décalage dans la durée de

végétation entre les deux sites n'a eu aucune influence sur la résistance maximale au froid des rameaux d'un an des arbres.

Enfin, cette expérimentation répond en partie aux questions que l'on peut se poser sur la résistance au froid pour un climat changeant (IPCC, 2007) avec des scénarii les plus optimistes qui prévoient une augmentation des températures de +1,8°C (dans une fourchette probable de +1,1°C à +2,9°C) et les moins optimistes prévoyant une augmentation de +4°C (dans une fourchette probable de +2,4°C à +6,4°C). Dans notre cas, la différence moyenne des températures minimales journalières de l'air entre les deux sites de culture était de +2,75°C ($\pm 0,6$). Les cultivars présents sur les deux sites ('Franquette' et hybride NG38) s'acclimatent aux conditions climatiques de leur environnement sans modifier sensiblement leur résistance maximale. Donc pour les deux cultivars, et en se basant sur nos résultats, une telle augmentation des températures du climat n'aura pas de conséquence sur leur survie face au gel.

Modélisation de l'endurcissement au froid

Le deuxième objectif de ce chapitre était de développer un modèle simple pour prédire le niveau d'endurcissement des arbres. L'étude des différentes relations entre la résistance au gel et la teneur en glucides (GFS ou amidon), l'humidité pondérale ou les températures minimales de l'air montrent qu'une relation linéaire existe entre la température de résistance au gel et ses diverses variables. Les données de LT₅₀ ont été utilisées dans d'autres études pour développer des modèles mathématiques. Ces modèles avaient pour objectif de prévoir comment ce processus de résistance au gel était affecté par le changement de certains paramètres physiologiques et environnementaux (Repo *et al*, 1990 ; Leinonen, 1995). Le modèle, que nous proposons, a été testé et validé avec des données venant d'expérimentations en plein champ. C'est un modèle prédictif qui est plus simple que les précédents car il n'est pas nécessaire de prendre en compte le stade de développement des arbres, seules les variables physiologiques (l'humidité pondérale et la teneur en sucres solubles du rameau de l'année) et une variable environnementale (moyenne des températures minimales journalières de l'air sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement) sont utiles. L'humidité pondérale et la variable environnementale permettent de prendre en compte l'histoire climatique à court terme ; la teneur en sucres solubles prend en considération l'état physiologique actuel

dépendant de l'histoire passé de l'arbre. Ce modèle requiert un paramétrage pour prendre en compte la variété. A ce stade, sa calibration est lourde car, pour l'utiliser, on doit connaître la teneur en sucres solubles et l'humidité pondérale à un moment donné. Afin de pouvoir le généraliser à d'autres espèces, son développement doit continuer en transformant chaque variable physiologique en variable climatique. Nous avons également remarqué que les données de 2005-2006 des arbres 'Franquette' sont systématiquement au dessus, mais sans pouvoir l'expliquer.

Pour conclure, les résultats de cette étude démontrent l'importance de l'histoire environnementale des arbres dans la prédiction de la résistance au gel. De plus, la corrélation ($r^2 = 0,725$) observée entre le niveau d'endurcissement au gel et la teneur en sucres solubles (glucose, fructose, saccharose) doit être étudiée spécifiquement afin de vérifier si son caractère explicatif peut s'étendre à la prédiction de la résistance au gel des arbres carencés en carbone suite à divers stress durant la période estivale de croissance. Nous tenterons de répondre à cette question dans le chapitre suivant.

**Chapitre III : Impact des conditions estivales de croissance
sur la résistance au gel de jeunes noyers en conteneur**

Comme nous venons de le voir dans le chapitre précédent, l'endurcissement au froid d'un rameau de noyer d'un an est fortement corrélé à son statut glucidique. Ainsi, dans cette troisième partie, nous souhaitons vérifier la robustesse de cette corrélation en faisant varier ce statut glucidique à l'aide de traitements variés durant la période de croissance de l'arbre. Nous avons ainsi travaillé sur de jeunes arbres en conteneur, plus aisément manipulables, ce qui nous a permis également d'étudier cette corrélation pour les autres organes de ces jeunes arbres. Dans un premier temps, nous allons caractériser ces différents traitements et leurs impacts sur la croissance estivale et la mise en réserve du carbone à l'automne. Dans un second temps, nous évaluerons les conséquences de ces traitements sur la résistance au gel des arbres à l'automne et en hiver.

Ce chapitre sera donc divisé en deux sous-chapitres :

III - A : Impact des conditions estivales de croissance sur le développement végétatif et la répartition des réserves carbonées dans les différents organes de l'arbre.

III - B : Impact des conditions estivales de croissance sur la résistance au gel des différents organes de l'arbre.

III - A : Impact des conditions estivales de croissance sur le développement végétatif et sur la répartition des réserves carbonées dans les différents organes de l'arbre

Introduction

La répartition du carbone dans la plante peut être influencée par un éventail de facteurs (stress environnementaux, maladies, ...) (Fitter et Hay, 1987). La réponse des plantes aux contraintes de leur environnement est visible, le plus souvent, par une altération de la croissance. Ainsi, l'étude de l'impact des contraintes environnementales sur la plante passe le plus souvent par une étude de la croissance de la plante. Les effets de l'environnement sur la croissance des plantes peuvent être divisés soit en effets induisant des dommages (causés par l'environnement), soit en réponses adaptatives (contrôlées par la plante). Chaque plante est capable de répondre aux fluctuations de son environnement et les réponses adaptatives peuvent impliquer des changements réversibles (habituellement, physiologique) ou irréversibles (habituellement, morphologique) (Fitter et Hay, 1987).

Ainsi, l'influence de l'environnement sur la photosynthèse et la mise en réserve ont fait l'objet de nombreuses études depuis plus de 70 ans (Kramer et Kozlowski, 1979a ; Tromp, 1983). Les variations saisonnières des réserves carbonées ont été étudiées chez le jeune arbre (Wargo, 1979 ; Bonicel *et al*, 1987 ; Kajji, 1992 ; Maillard *et al*, 1994 ; Sauter et Van Cleve, 1994 ; Holl, 1997 ; Sauter et Wellenkamp, 1998) et diverses espèces d'arbres fruitiers (Priestley, 1960, 1977). Les réserves carbonées sont mobilisées à l'intérieur de l'arbre pour être utilisées, comme "carburant", par la respiration d'entretien hivernale (Ögren, 2000), mais surtout par la respiration de croissance lors du débourrement et de la reprise d'activité cambiale au printemps, ainsi que pour la croissance des nouvelles pousses (Lacointe *et al*, 2004). La proportion de photosynthétats allouée aux différentes utilisations, en incluant le stockage des composés, change pendant la saison estivale de croissance et parfois en fonction du milieu extérieur (Kramer et Kozlowski, 1979b ; Le Roux *et al*, 2001). Or, peu d'études se sont focalisées sur la mise en réserve elle-même (Lacointe, 2000) et surtout sur l'effet des conditions estivales de croissance sur la répartition des réserves entre les différents organes de l'arbre.

L'objectif de cette partie est donc d'analyser les différences de dynamique de développement aérien engendrées par certains stress abiotiques durant la période estivale de croissance de jeunes noyers en conteneur. Nous chercherons ensuite à vérifier si ces diversités

de développement s'accompagnent d'une modification de la répartition des réserves glucidiques (GFS et amidon : en termes de teneur et de quantité) et de la biomasse (totale et structurale) dans les différents organes de l'arbre (rameaux de l'année, tronc, grosses racines et racines fines). Enfin, nous étudierons l'évolution des réserves glucidiques durant la période hivernale, évolution liée principalement à la "respiration d'entretien" en fonction des différents traitements estivaux et pour les différents organes de l'arbre.

Avant d'exposer et de discuter les résultats de ce chapitre, nous rappellerons très succinctement le matériel et les méthodes qui nous ont permis de répondre aux différents objectifs.

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre est décrit dans le paragraphe 1.1 (arbres en conteneur) (page 81). Les traitements appliqués sont décrits dans le paragraphe 1.2.1 (page 87). Les méthodes dont nous nous sommes servis sont présentées dans les paragraphes 2.1 (état hydrique) (page 95), 2.2 (suivie de la croissance, surface foliaire) (page 97), 2.4 (histologie (avant gel)) (page 102), 2.5 (dosages glucidiques) (page 104) et 3.1 (analyse statistique) (page 117).

Résultats

3.A.1 Développement aérien des arbres sous différentes contraintes culturales

Nous allons étudier le développement aérien des arbres pour différentes contraintes en décrivant l'impact du traitement sur la croissance en diamètre, en longueur et la surface foliaire, ainsi que le nombre de feuilles. Cette description sera présentée pour chaque conditionnement de manière individualisée et par comparaison avec le traitement témoin. Nous commencerons par le traitement carence azotée.

3.A.1.1 Traitement carence azotée

Croissance en diamètre du tronc :

La *figure III.1* montre l'évolution de la croissance en diamètre des arbres subissant une carence en azote. En absence de contrainte, la croissance en diamètre des troncs présente deux

phases de croissance. La première est une phase active (du débourrement au début du mois d'août) ; la seconde est une phase à croissance réduite (de début août jusqu'à la fin de l'expérimentation). Lorsqu'une carence azotée intervient au début de l'été (Nutrition1 : 14 juin 2005), on observe un ralentissement de la croissance en diamètre du tronc. Ce ralentissement induit un plus faible diamètre du tronc pour ces arbres en fin d'expérimentation (augmentation de diamètre : N1 = $+1602 \pm 567 \mu\text{m}$; N3 = $+4345 \pm 299 \mu\text{m}$; différence significative, $P = 0,05$). Ainsi, pour les arbres carencés précocement en azote, la croissance finale en diamètre du tronc est 2,7 fois plus faible que celle des arbres alimentés par une solution nutritive complète (Nutrition3). De plus, les différentes phases de croissance (active et réduite), que l'on peut différencier chez les arbres N3, ne sont plus identifiables chez les arbres N1. Lorsque la carence en azote intervient en cours de la période estivale (Nutrition2 : 22 juillet 2005), on observe une augmentation de la vitesse de croissance du diamètre de ces arbres. Mais, cette prise de diamètre du tronc n'est pas significativement différente de celle des arbres N3 en fin d'expérimentation (augmentation de diamètre : N3 = $4345 \pm 299 \mu\text{m}$ N2 = $5484 \pm 747 \mu\text{m}$; différence non significative, $P = 0,127$).

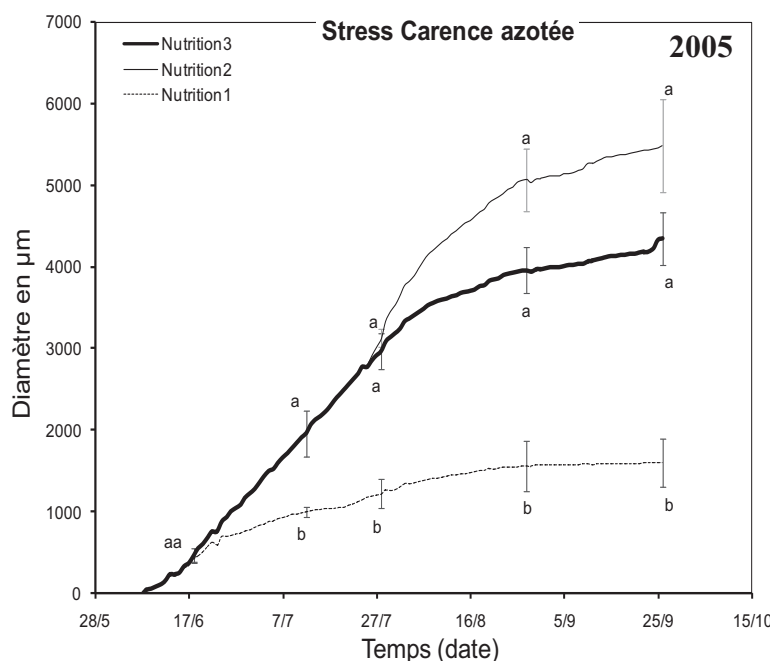


Figure III.1 : Croissance en diamètre du tronc des arbres soumis à une carence en azote (moyenne \pm SE ; n=3). Le stress nutrition 1 débuta le 14/06/05. Le stress nutrition 2 commença le 22/07/05. Les arbres nutrition 3 sont alimentés d'une solution nutritive complète ; ce sont les témoins des arbres en perlite. A une date donnée, des lettres différentes mettent en évidence des différences de croissance significatives entre les stress ($P < 0,05$).

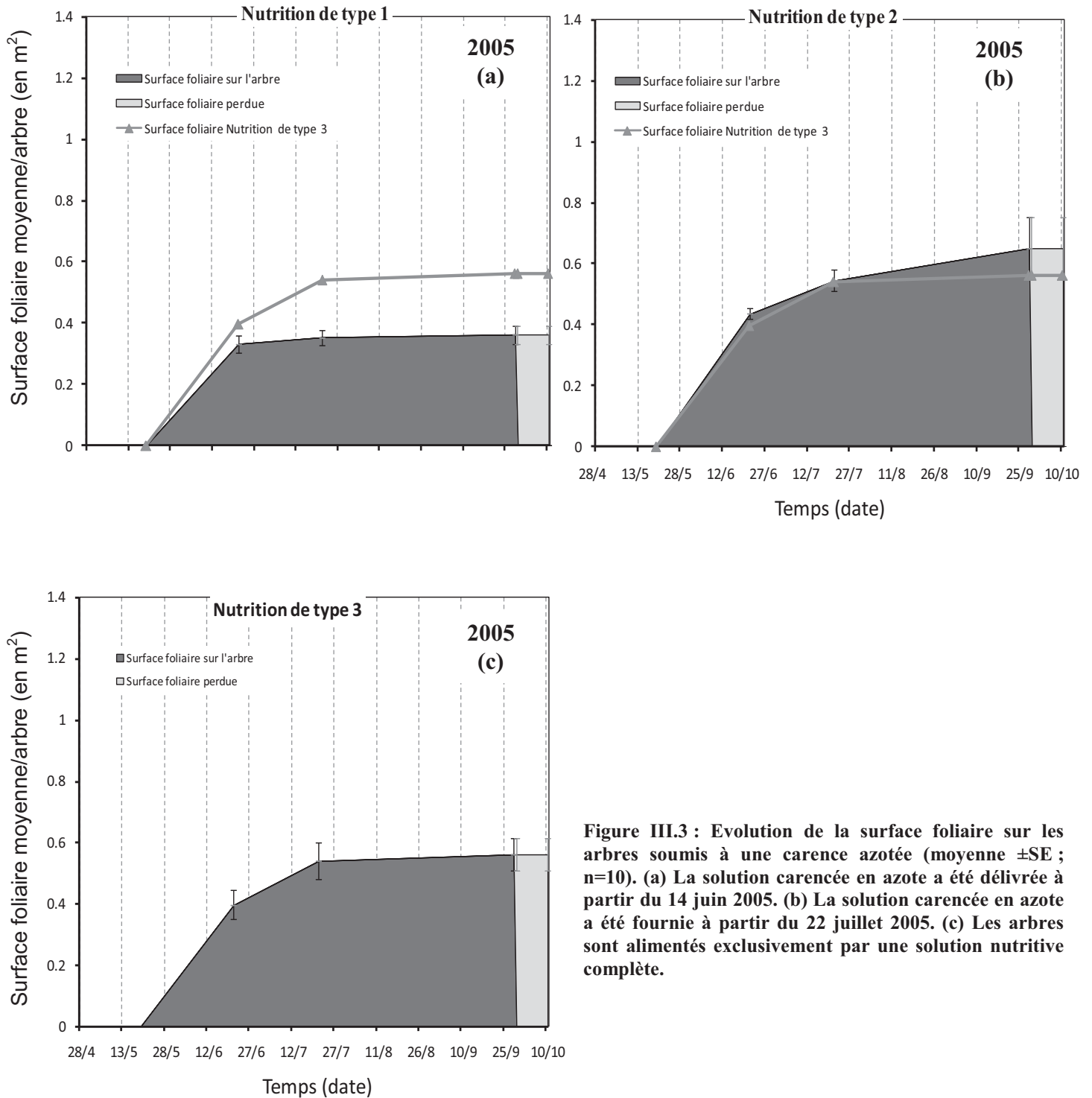


Figure III.3 : Evolution de la surface foliaire sur les arbres soumis à une carence azotée (moyenne \pm SE ; n=10). (a) La solution carencée en azote a été délivrée à partir du 14 juin 2005. (b) La solution carencée en azote a été fournie à partir du 22 juillet 2005. (c) Les arbres sont alimentés exclusivement par une solution nutritive complète.

Evolution de la surface foliaire et du nombre de feuilles :

Le *tableau III.1* expose le nombre de feuilles produites en début de stress et en fin d'expérimentation des arbres en carence azotée.

Tableau III.1 : Nombre de feuilles produites (cumulé) par les arbres en début de stress carence azotée et en fin d'expérimentation (moyenne \pm SE, n = 10).

<i>Année</i>	<i>Traitement</i>	<i>En début de traitement</i>	<i>En fin d'expérimentation</i>
2005	Nutrition1	23,2 \pm 1,8 (21/06/05)	23,7 \pm 3,4 (28/09/05)
	Nutrition2	24,8 \pm 1,1 (21/06/05)	32,4 \pm 3,1 (28/09/05)
	Nutrition3	26,7 \pm 2,3 (21/06/05)	33 \pm 2,7 (28/09/05)

Entre le 21 juin 2005 et le 28 septembre 2005, le nombre de feuilles sur les arbres N1 n'est pas significativement différent ($P = 0,879$). Pour les arbres N2 et les arbres N3, la production de feuilles se poursuit (significatif, N2 : $P = 0,049$ et N3 : $P = 0,075$). De plus, en fin d'expérimentation, les feuilles des arbres en carence azotée (N1 et N2) ont pâli par rapport à celle des arbres N3 (*figure III.2*).



Figure III.2 : Photographie des arbres soumis à des carences azotées de durée variable (photos prises le 27 septembre 2005 ; (a) : arbres N3, (b) : arbres N1, (c) : arbres N2).

La surface foliaire produite par les arbres soumis à une carence azotée est présentée sur la *figure III.3*. Une carence azotée qui débute mi-juin (N1) entraîne une réduction significative de la surface foliaire ($N1 = 0,36 \pm 0,03 \text{ m}^2$; $N3 = 0,56 \pm 0,05 \text{ m}^2$; significatif, $P = 0,003$). Les arbres N2 produisent en final une surface foliaire qui n'est pas significativement différente de celle des arbres N3 ($N2 = 0,65 \pm 0,1 \text{ m}^2$; $N3 = 0,56 \pm 0,05 \text{ m}^2$; non significatif, $P = 0,684$). Le conditionnement N2 n'a donc pas d'influence sur la surface foliaire des arbres.

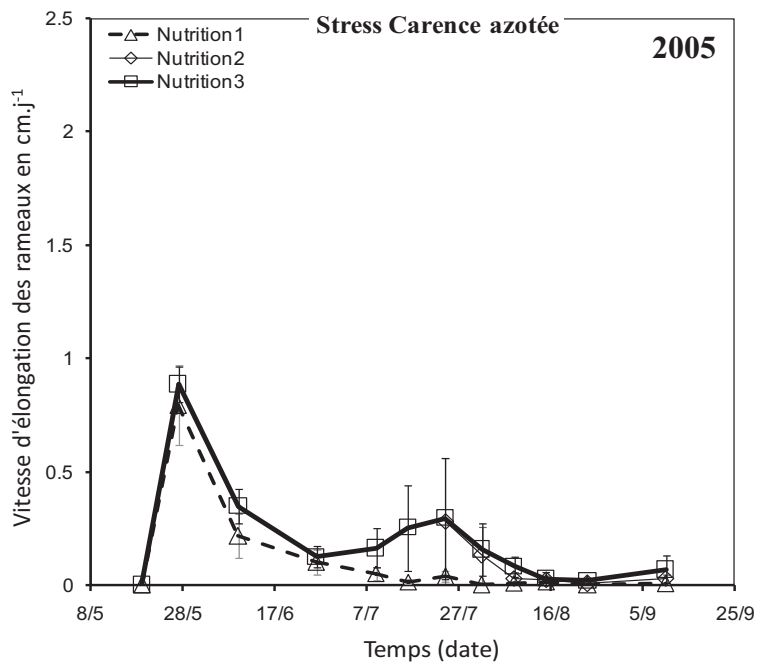


Figure III.4 : Evolution de la vitesse d'élongation des rameaux des arbres subissant des carences azotées (moyenne \pm SE ; n=4).

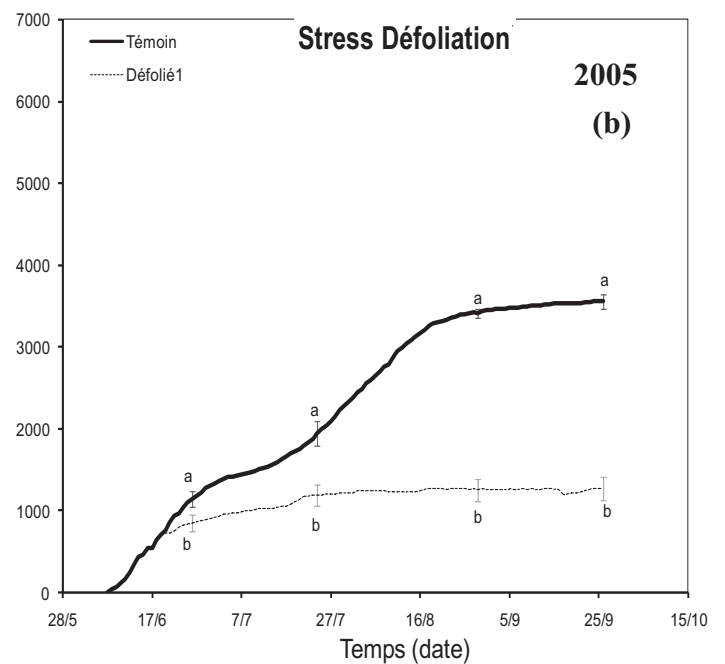
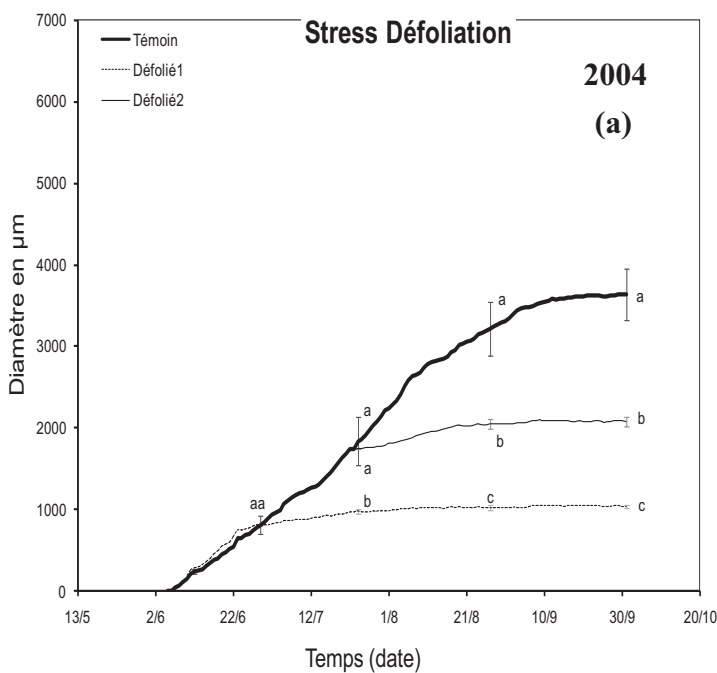


Figure III.5 : Croissance en diamètre du tronc des arbres soumis à une défoliation (moyenne \pm SE ; n=3 en 2004 et en 2005). (a) Pour la première année d'expérimentation, le stress défolié1 débuta le 10/06/04, le stress défolié2 commença le 22/07/04 et le stress défolié3 fut réalisé le 6/09/04. (b) Pour la deuxième année d'expérimentation, le stress défolié1 commença le 17/06/05. A une date donnée, des lettres différentes mettent en évidence des différences de croissance significatives entre les stress.

Croissance en longueur des jeunes pousses :

En l'absence de contrainte, les jeunes pousses des arbres N3 présentent deux phases de croissance en longueur (*figure III.4*). La première, très active, est consécutive au débourrement. Le 3 juin 2005, la vitesse d'élongation moyenne est de $0,89 \pm 0,08 \text{ cm.j}^{-1}$. Elle se ralentit ensuite pour atteindre une valeur moyenne de $0,12 \pm 0,05 \text{ cm.j}^{-1}$. La seconde, qui se déroule au cours du mois de juillet, est moins active. On ne l'observe que pour les arbres N2 et N3. Les arbres N1 ne présentent pas de deuxième vague de croissance (*figure III.4*).

3.A.1.2 Traitement défoliation

Croissance en diamètre du tronc :

La *figure III.5* illustre le comportement de la croissance en diamètre des troncs des arbres, en 2004 et en 2005, soumis à différentes durées de défoliation. En l'absence de contrainte, le témoin présente deux phases de croissance (*figure III.5 (a) et (b)*). La première est une phase à croissance active (du débourrement au début du mois d'août) ; la deuxième est une phase à croissance réduite (de début août jusqu'à la fin de l'expérimentation). Entre le 1^{er} juillet 2005 et le 15 juillet 2005, les arbres témoins semblent ressentir un léger stress hydrique qui se matérialise par un ralentissement de la courbe de croissance en diamètre du tronc. Durant l'expérimentation, nous avons remédié à ce problème en augmentant le temps d'irrigation de ces arbres. On voit, alors, une reprise active de la croissance des arbres (*figure III.3 (b)*) qui semble bien confirmer ce manque d'eau. La croissance en diamètre des arbres témoins (T) en fin d'expérimentation est comparable en 2004 et en 2005 ($T_{2004} = +3633 \pm 316 \text{ } \mu\text{m}$; $T_{2005} = +3563 \pm 90 \text{ } \mu\text{m}$; différence non significative, $P = 0,513$). Une défoliation précoce (D1) ou tardive (D2) induit une diminution importante de cette croissance en diamètre du tronc (*figure III.5*). Les deux phases de croissance en diamètre ne sont plus visibles pour les arbres défoliés. L'augmentation du diamètre du tronc en fin d'expérimentation est alors significativement différente par rapport aux témoins (en 2004 : $T = +3633 \pm 316 \text{ } \mu\text{m}$; $D1 = +1036 \pm 16 \text{ } \mu\text{m}$, $P = 0,05$; $D2 = +2076 \pm 54 \text{ } \mu\text{m}$, $P = 0,05$; en 2005 : $T = +3563 \pm 90 \text{ } \mu\text{m}$; $D1 = +1271 \pm 67 \text{ } \mu\text{m}$, $P = 0,05$). Ainsi, par rapport aux témoins, la croissance en diamètre du tronc est 3,5 fois plus faible pour les arbres $D1_{2004}$, 2,8 fois plus faible pour les arbres $D1_{2005}$ et 1,8 fois plus faible pour les arbres D2.

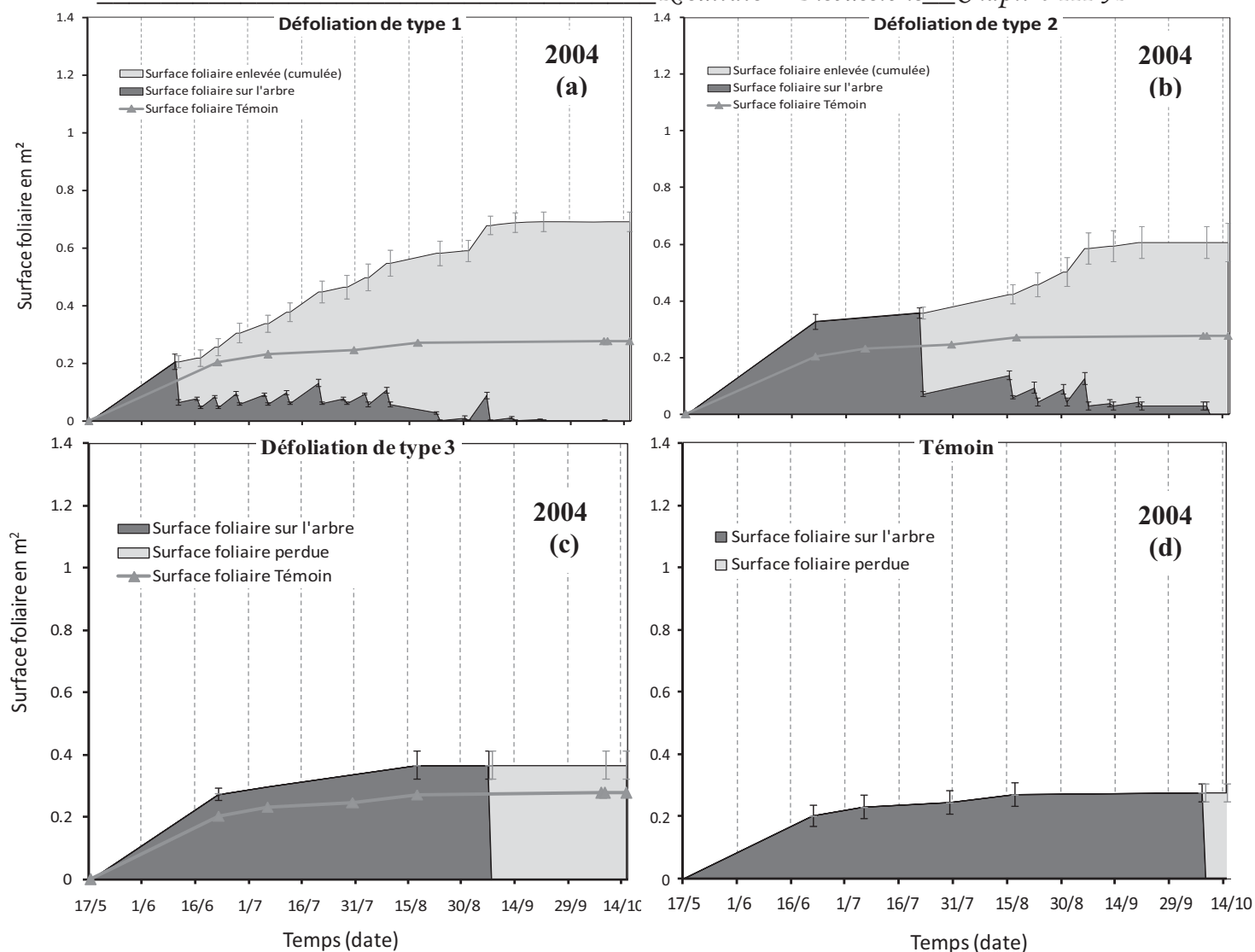


Figure III.6 : Evolution de la surface foliaire des arbres soumis à une défoliation durant l'été 2004 (moyenne \pm SE ; en 2004, n=6 ; en 2005, n=35). Défoliation de type 1 ; (b) Défoliation de type 2 ; (c) Défoliation de type 3 ; (d) Témoin.

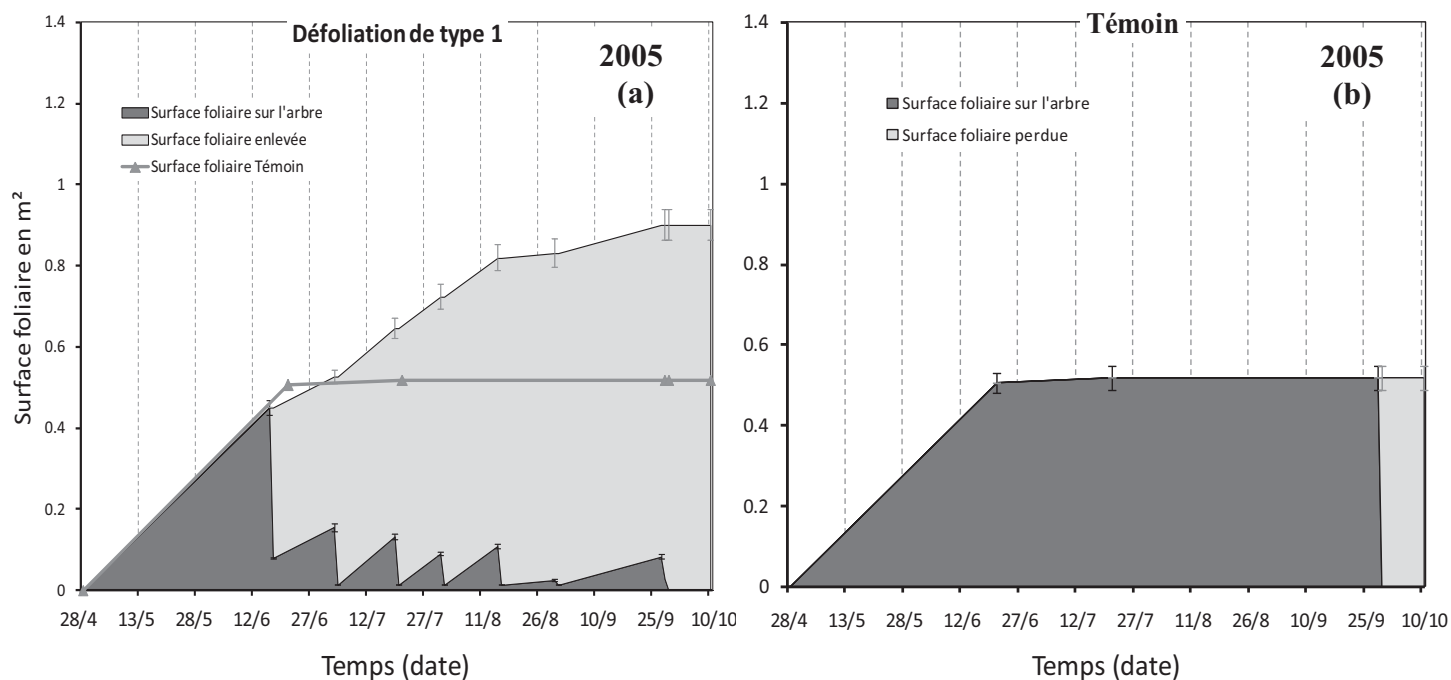


Figure III.7 : Evolution de la surface foliaire des arbres soumis à une défoliation durant l'été 2005 (moyenne \pm SE ; en 2004, n=6 ; en 2005, n=35). (a) D1 ; (b) Témoin.

Evolution de la surface foliaire et du nombre de feuilles :

Les figures III.6 et III.7 montrent l'évolution de la surface foliaire des arbres soumis à ces défoliations de durée variable.

La surface foliaire présente sur les arbres défoliés (D1 ou D2) est très réduite durant tout l'été (surface foliaire en place pendant les traitements : D1₂₀₀₄ : <0,13 m² ; D2₂₀₀₄ : <0,14 m² ; T₂₀₀₄ : <0,28 m² ; D1₂₀₀₅ : <0,16 m² ; T₂₀₀₅ : 0,52 m²). Notamment, en 2004, lors de la mise en place des traitements D1 ou D2, la surface foliaire restante sur les arbres D1 et D2 représentait 1/3 et 1/5 de la surface foliaire avant le stress (respectivement) (D2 : avant stress = $0,36 \pm 0,02$ m² et après stress = $0,07 \pm 0,01$ m² ; D1 : avant stress = $0,21 \pm 0,03$ m² et après stress = $0,07 \pm 0,01$ m²) (figure III.6 et III.7). Pendant le traitement, les arbres D1 (en 2004 et en 2005) et D2 émettent continuellement des feuilles à l'extrémité des rameaux, le méristème apicale reste actif (tableau III.2 et figures III.6 et III.7), alors que les bourgeons axillaires restent dormants. En fin d'expérimentation, le nombre de feuilles produites par les arbres D1 et D2 est significativement plus élevé que celui des arbres T. La surface foliaire totale produite par les arbres D1 en 2004 est 2,5 fois plus grande que celle produite par les arbres T (figure III.6 : le 9 octobre 2004 : T₂₀₀₄ : $0,28 \pm 0,03$ m² ; D1₂₀₀₄ : $0,69 \pm 0,03$ m², différence significative, P = 0,004). La surface foliaire totale produite par les arbres D1 en 2005 est 1,7 fois plus importante que celle produite par les arbres T (figure III.7: le 29 septembre 2005 : T₂₀₀₅ : $0,52 \pm 0,03$ m² ; D1₂₀₀₅ : $0,9 \pm 0,04$ m² ; différence significative, P<0,0001). Enfin, si la production de nouvelles feuilles pour les arbres D1 et D2 semble s'arrêter au cours du mois de septembre en 2004, elle est seulement ralentie en 2005 pour D1.

La défoliation très tardive (D3) réalisée le 6 septembre 2004 dans le but de commencer une remobilisation des réserves carbonées pour ces arbres, ne permet pas l'émission de nouvelles feuilles (figure III.6). Le méristème terminal reste inactif. Les surfaces foliaires produites par les arbres T et les arbres D3 ne sont pas significativement différentes (D3 = $0,37 \pm 0,04$ m² ; T : $0,28 \pm 0,03$ m², différence non significative, P = 0,109). De plus, le nombre de feuilles produites par les arbres D3 et T n'est pas significativement différent (tableau III.2 : D3 et T, P = 0,687).

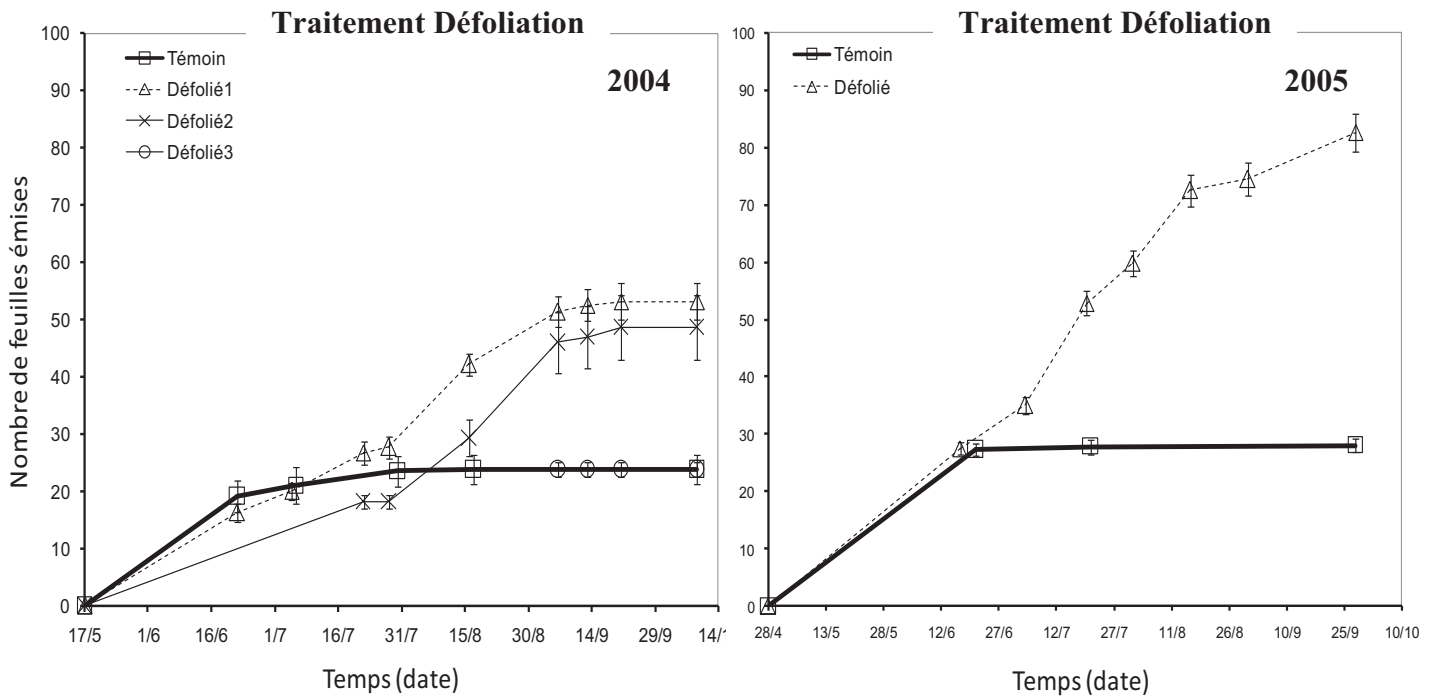


Figure III.8 : Evolution du nombre des feuilles produites par les arbres soumis à différentes défoliations (moyenne \pm SE ; en 2004, n=6 ; en 2005, n=35).

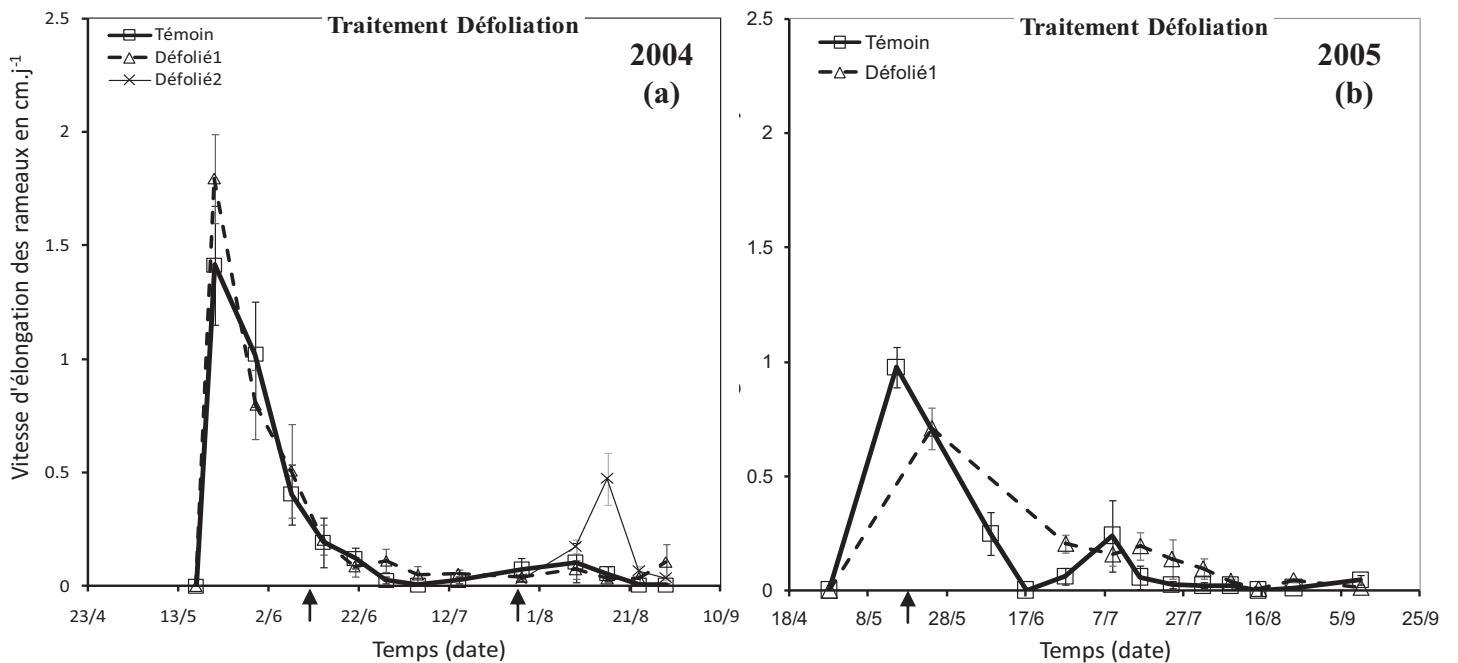


Figure III.9 : Evolution de la vitesse d'élancement des rameaux d'arbres subissant les traitements de défoliation (moyenne \pm SE ; en 2004, n=6 ; en 2005, n=4).

Tableau III.2 : Nombre de feuilles produites (cumulé) par les arbres en début de traitement de défoliation et en fin d'expérimentation (moyenne \pm SE ; en 2004, n=6 ; en 2005, n=35). * : Différence significative avec le témoin et $P < 0,05$, ** : différence significative avec le témoin et $P < 0,01$, * : différence significative avec le témoin et $P < 0,001$ et NS : différence non significative avec le témoin.**

<i>Année</i>	<i>Traitement</i>	<i>En début de traitement</i>	<i>En fin d'expérimentation</i>
2004	Défoliation1	12 \pm 1,3 (10/06/04)	53,2 \pm 3,2 (9/10/04) **
	Défoliation2	18,2 \pm 1,1 (22/07/04)	48,7 \pm 5,7 (9/10/04) *
	Défoliation3	23,8 \pm 1,2 (6/09/04)	23,8 \pm 1,2 (9/10/04) NS
	Témoin	-	23,8 \pm 2,6 (9/10/04)
2005	Défoliation1	27,5 \pm 1 (21/06/05)	82,6 \pm 3,3 (28/09/05) ***
	Témoin	-	28,1 \pm 1,2 (28/09/05)

Croissance en longueur des jeunes pousses :

Les variations de la vitesse d'élongation des rameaux des arbres soumis aux différents traitements de défoliation, en 2004 et en 2005, sont représentées sur les *figures III.9 (a) et (b)*. En absence de contrainte, la croissance en longueur des pousses présente une alternance de phases actives de croissance et de repos (*figure III.9*). La première phase est une phase de croissance très active (le 21 mai 2004, $D1_{\text{avant stress}} = 1,8 \pm 0,2 \text{ cm.j}^{-1}$ et $T = 1,4 \pm 0,3 \text{ cm.j}^{-1}$, différence non significative, $P = 0,109$). La vitesse d'élongation ralentit ensuite rapidement pour entrer dans une phase de repos (entre le 28/06/04 et le 14/07/04, vitesse non significativement différente de 0, $P > 0,05$). La croissance en longueur des rameaux reprend (le 28 juillet 2004, vitesse significativement différente de 0, $P < 0,007$). Cette reprise de la croissance est beaucoup moins active que la première phase. A partir du 9 août 2004, la vitesse de la croissance en longueur des rameaux n'est plus significativement différente de 0 ($P > 0,05$). Lorsqu'une défoliation intervient le 10 juin 2004, il n'y a plus de phase de repos (vitesse significativement différente de 0 : entre le 10 juin et le 9 août, $P < 0,05$; le 16 août : $P < 0,06$; le 23 août : $P < 0,06$; le 29 août : $P = 0,022$). Les rameaux croissent continuellement. De plus, les rameaux des arbres D1 continuent de s'allonger en fin de saison estivale de croissance (le 29 août 2004), alors que les rameaux des arbres T sont au repos ($D1_{2004} : P = 0,022$ (significativement différent de 0 cm.j^{-1}) ; $T_{2004} : P = 0,317$ (non significativement différent de 0 cm.j^{-1})). Lorsque la défoliation intervient le 22 juillet 2004, on initie une phase très active de croissance en longueur (vitesse maximale relevée le 16 août 2004, $D2 = 0,47 \pm 0,11 \text{ cm.j}^{-1}$) qui ralentit assez rapidement (le 23 août 2004, $D2 = 0,07 \pm 0,02 \text{ cm.j}^{-1}$, significativement différent de 0 cm.j^{-1} , $P = 0,002$). Comme pour les arbres D1, les rameaux des arbres D2 ne sont pas au repos le 29 août 2004 ($D2 = 0,04 \pm 0,01 \text{ cm.j}^{-1}$, significativement

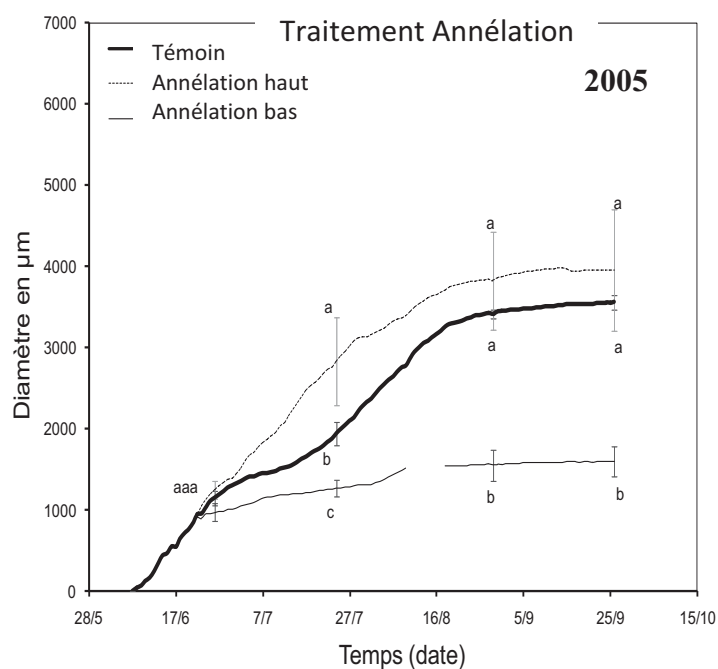


Figure III.10: Croissance en diamètre du tronc des arbres soumis à un traitement annélation (moyenne $\pm\text{SE}$; $n=3$). La décortication a été faite le 21/06/05. A une date donnée, des lettres différentes mettent en évidence des différences de croissance significatives entre les stress.

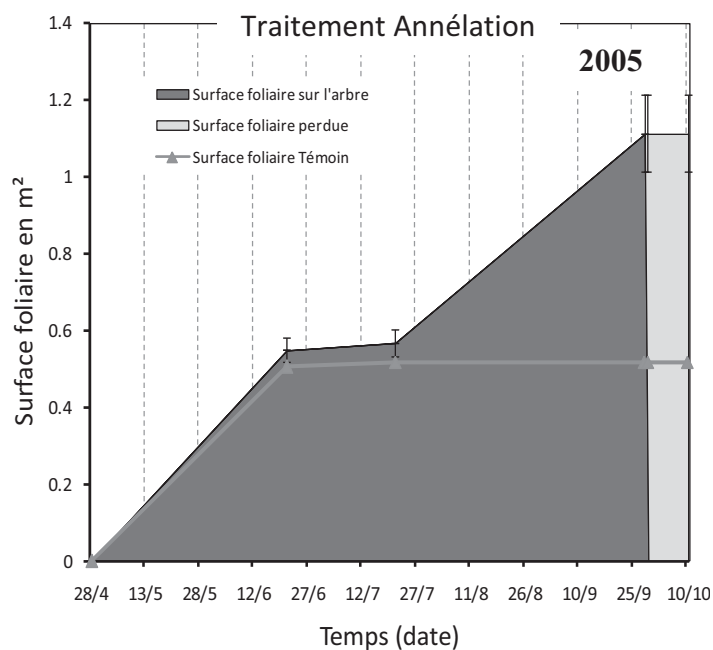


Figure III.11 : Evolution de la surface foliaire sur les arbres soumis à une décortication annulaire (moyenne $\pm\text{SE}$; $n=17$).



Noyers annelés 27 juillet 2005



Noyer témoin 27 juillet 2005

Figure III.12 : Photos montrant la différence de comportement des feuilles des arbres annelés et témoin.

différent de 0 cm.j^{-1} , $P = 0,007$). En 2005, on observe également des phases de croissance active et de repos (*figure III.9 (b)*). La deuxième phase de croissance active est plus rapprochée de la première phase de croissance pour les arbres T_{2005} . On peut remarquer que la deuxième phase de croissance active n'intervient pas au même moment d'une année à l'autre. En 2004, on l'a rencontrée au mois d'août, alors qu'en 2005, elle se déroule en juillet. Comme en 2004, les arbres $D1_{2005}$ ne montrent pas de phase de repos avant la fin de la saison estivale de croissance ; les rameaux $D1$ s'allongent continuellement.

3.A.1.3 Traitement annélation

Croissance en diamètre du tronc :

En fin d'expérimentation, la partie du tronc des arbres annelés (G) située au dessus de l'anneau de décortication annulaire (G_{haut}) montre une augmentation du diamètre du tronc légèrement plus importante que celle des arbres témoins (*figure III.10*) (le 29 septembre 2005, $T_{2005} = +3563 \pm 90 \text{ }\mu\text{m}$, $G_{\text{haut}} = +3956 \pm 675 \text{ }\mu\text{m}$, différence non significative, $P = 0,513$). Le 24 juillet 2005, la différence entre l'augmentation de diamètre du tronc des arbres T et celle de la partie supérieure des arbres G est significative ($T_{2005} = +3563 \pm 90 \text{ }\mu\text{m}$, $P = 0,05$, $G_{\text{haut}} = +2830 \pm 449 \text{ }\mu\text{m}$, $P = 0,05$). Le diamètre final de la partie située en dessous de l'anneau de décortication annulaire (G_{bas}) montre une croissance en diamètre du tronc ralentie. En final, l'augmentation de diamètre est significativement plus faible que celle des témoins (le 26 septembre 2005, $T_{2005} = +3563 \pm 90 \text{ }\mu\text{m}$, $G_{\text{bas}} = +1599 \pm 180 \text{ }\mu\text{m}$, différence significative, $P = 0,05$).

Evolution de la surface foliaire et du nombre de feuilles :

L'évolution de la surface foliaire des arbres G est montrée par la *figure III.11*. En début d'expérimentation, la surface foliaire des arbres G n'est pas significativement différente de celle des arbres T (le 21 juin 2005 : $T = 0,51 \pm 0,02 \text{ m}^2$ vs. $G = 0,55 \pm 0,03 \text{ m}^2$, $P = 0,246$; le 21 juillet 2005 : $T = 0,52 \pm 0,03 \text{ m}^2$ vs. $G = 0,57 \pm 0,04 \text{ m}^2$, $P = 0,270$). En fin de saison estivale de croissance, la surface foliaire des arbres G est significativement plus élevée que celle des témoins (le 28 septembre 2005 : $T = 0,52 \pm 0,03 \text{ m}^2$ vs. $G = 1,11 \pm 0,1 \text{ m}^2$, $P = 0,0001$). Il n'y a pas d'émission de nouvelles feuilles pendant le traitement. On observe donc une augmentation de la surface foliaire sans émission de nouvelles feuilles (*tableau III.3*). De plus, les feuilles des arbres G montraient un comportement différent de celui des témoins. Elles s'enroulent sur elles-mêmes (*figure III.12*).

Tableau III.3 : Nombre de feuilles produites (cumulé) par les arbres en début de traitement annélation et en fin d'expérimentation (moyenne \pm SE ; n=17). NS : différence non significative au début et à la fin de l'expérimentation (colonne Traitement), ** : Différence significative avec le témoin et P=0,006.

Année	Traitement	En début de traitement	En fin d'expérimentation
2005	Annélation NS	$31 \pm 1,2$ (21/06/05)	$33,9 \pm 2,4$ (28/09/05) **
	Témoin	-	$28,1 \pm 1,2$ (28/09/05)

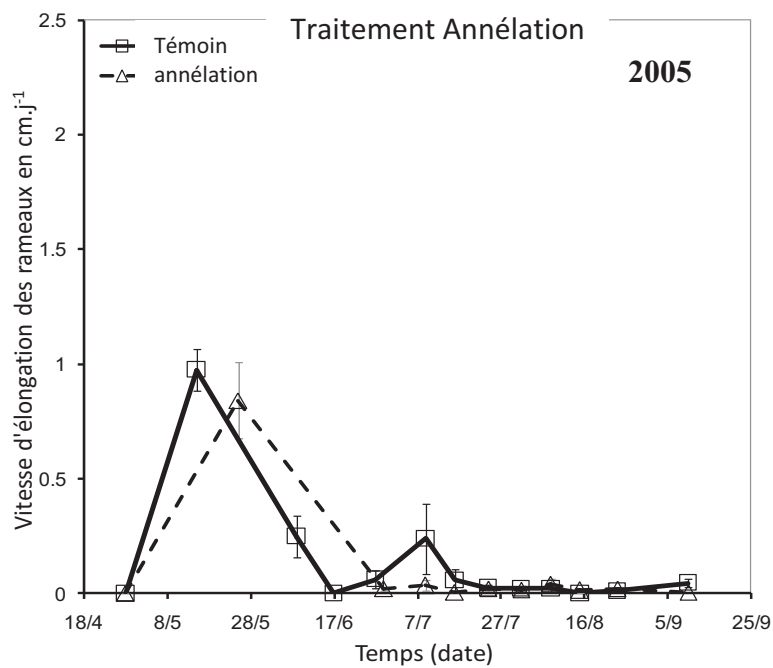


Figure III.13 : Evolution de la vitesse d'élongation des rameaux des arbres subissant un traitement annélation (moyenne \pm SE ; n=4).

Croissance en longueur des jeunes pousses :

La *figure III.13* montre l'évolution de la vitesse d'élongation des arbres soumis à une décortication annulaire de l'écorce du tronc l'été 2005. Contrairement aux arbres T, les arbres G présentent une seule phase de croissance active : celle située consécutivement au moment de débourrement (le 21 juin 2005, la vitesse d'élongation est de $0,84 \pm 0,02 \text{ cm.j}^{-1}$). Elle est ensuite très faible jusqu'à la fin de l'expérimentation (vitesse d'élongation maximale sur la période du 6 juillet 2005 au 22 septembre 2005 : $0,042 \pm 0,17 \text{ cm.j}^{-1}$). En final, la longueur des rameaux des arbres G n'est pas significativement différente des arbres T ($T = 37 \pm 4 \text{ cm}$ vs, $G = 46 \pm 9 \text{ cm}$, $P = 0,248$).

3.A.1.4 Traitement hydrique

L'intensité de la contrainte hydrique imposée par les traitements Sécheresse1 (S1) et Sécheresse2 (S2) est décrite par le suivi du potentiel hydrique foliaire de base et minimal (*figure III.14*) et de la transpiration relative (*figure III.16*) des arbres.

Les arbres S1 ne sont plus irrigués à partir du 2 juin 2004. Le stress hydrique a été ressenti par la plante 14 jours après le début du traitement. Le plus haut niveau de sécheresse des arbres S1 a été maintenu pendant 7 jours (du 8 juillet au 15 juillet) ($\psi_{\text{base stressés}} = -1,2 \text{ MPa}$; $\psi_{\text{min stressés}} \sim -1,6 \text{ MPa}$) (*figure III.14*). La transpiration relative diminue progressivement pour passer, le 7 juillet, sous la barre des 0,2. Elle est extrêmement réduite (*figure III.14 (a)*) : du 7 juillet au 20 juillet ; transpiration relative moyenne sur cette période : $0,18 \pm 0,01$). Le seuil de cavitation semble être atteint.

Pour les arbres S2, l'arrêt de l'irrigation a été réalisé à partir du 27 juillet 2004. Le stress hydrique des arbres S2 a été ressenti plus rapidement que celui des arbres S1 (au bout de 2 jours). La transpiration relative diminue rapidement pour passer, dès le 5 août, sous la barre des 0,2 (*figure III.14 (b)*) : du 5/08/04 au 31/08/04 : transpiration relative moyenne sur cette période : $0,19 \pm 0,01$). La chute des potentiels hydriques foliaires (ψ_{base} et ψ_{min}) des arbres S2 est significativement plus rapide que celle des arbres S1 (vitesse de diminution de ψ_{base} : $S1 = -0,044 \pm 0,004 \text{ MPa.j}^{-1}$, vs. $S2 = -0,15 \pm 0,008 \text{ MPa.j}^{-1}$, significatif, $P = 0,004$; vitesse de diminution de ψ_{min} : $S1 = -0,012 \pm 0,0009 \text{ MPa.j}^{-1}$, vs. $S2 = -0,09 \pm 0,005 \text{ MPa.j}^{-1}$, significatif, $P = 0,004$). Le niveau maximal du stress ($\psi_{\text{base}} = -1,4 \text{ MPa}$; $\psi_{\text{min}} \sim -1,75 \text{ MPa}$) est obtenu 7 jours après le début du conditionnement (*figure III.14 (b)*). Ce niveau est maintenu pendant 27 jours (du 4 août au 31 août). Pendant cette période, la transpiration relative est très faible (*figure III.16*). Le seuil de cavitation semble être atteint également.

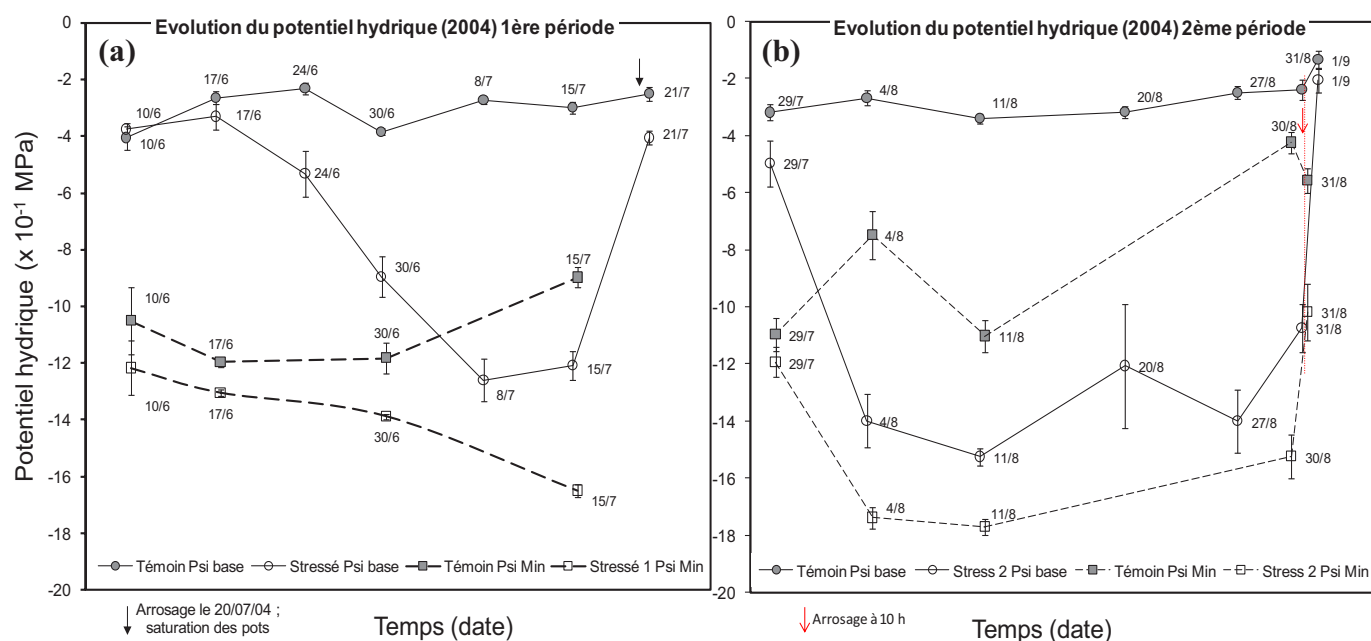


Figure III.14 : Evolution du potentiel hydrique foliaire durant les deux périodes de sécheresse. (a) 1^{ère} période de stress ; (b) 2^{ème} période de stress (moyenne \pm SE ; n=6).

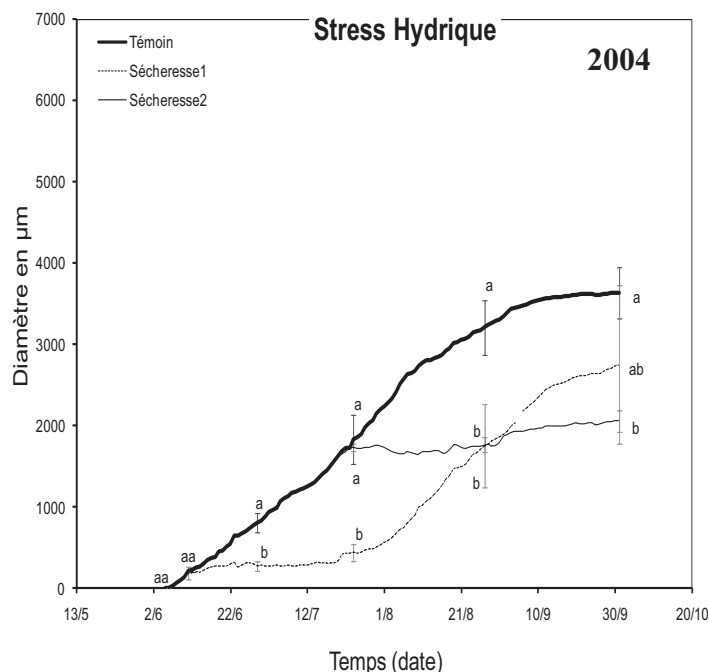


Figure III.15 : Croissance en diamètre du tronc des arbres soumis à stress hydrique (moyenne \pm SE ; n=3). Le stress Sécheresse1 a été réalisé du 2/06/04 au 20/07/04. Le stress Sécheresse2 a été fait du 19/07/04 au 30/08/04. A une date donnée, des lettres différentes mettent en évidence des différences de croissance significatives entre les stress.

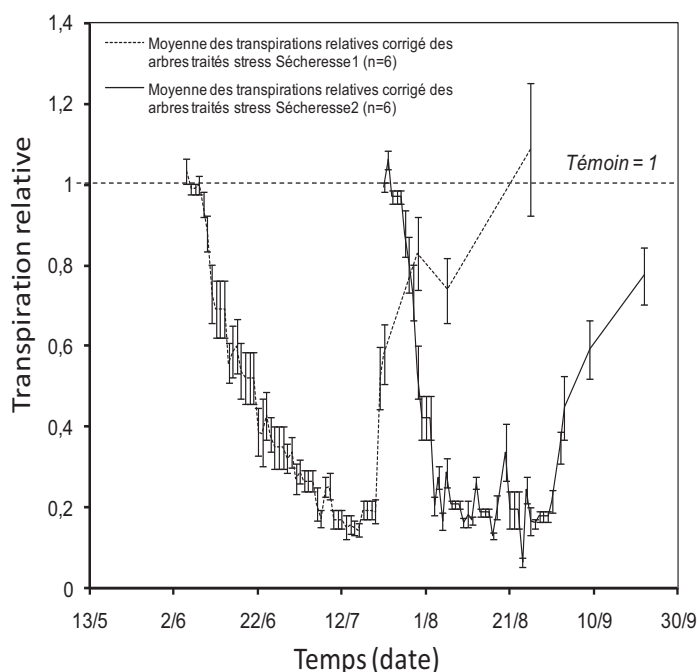


Figure III.16 : Transpiration relative des arbres S1 et S2 (moyenne \pm SE ; n=6).

Après réhydratation des arbres S1 et S2, le potentiel hydrique de base retrouve sa valeur initiale. Les contraintes hydriques appliquées pendant ces deux périodes sont donc très sévères, mais apparemment sans conséquence sur les capacités de réhydratation des arbres subissant ces traitements.

Croissance en diamètre du tronc :

La *figure III.15* montre l'évolution de la croissance en diamètre du tronc des arbres soumis à différentes contraintes hydriques. Lorsque le manque d'eau intervient en début de période estivale de croissance, les arbres cessent presque immédiatement de croître en diamètre et, après réhydratation (le 20 juillet 2004), montrent une croissance qui reprend (*figure III.15*) après une période de latence d'environ une semaine (du 20 juillet 2005 au 27 juillet 2005). Lorsque l'arrêt de l'irrigation intervient en deuxième partie de la saison estivale de croissance, on observe un arrêt immédiat de la croissance en diamètre des arbres (*figure III.15*) avec là aussi, une reprise de croissance beaucoup plus faible après réhydratation (le 31 août 2004) (*figure III.15*).

Evolution de la surface foliaire et du nombre de feuilles :

Seul $84 \pm 49 \text{ cm}^2$ de surface foliaire sont perdus à la fin de la première période de sécheresse (*figure III.17*). Après réhydratation, les arbres fabriquent de la surface foliaire en émettant de nouvelles feuilles (*figure III.17* et *tableau III.4*) (surface foliaire produite après stress (entre le 30 juillet 2004 et le 8 octobre 2004) : $0,16 \pm 0,9 \text{ m}^2$; différence significative entre le nombre de feuilles produites au début et à la fin de l'expérimentation pour S1, $P = 0,055$). En final, les surfaces foliaires produites par les arbres S1 et T ne sont pas significativement différentes (le 9 octobre 2004, S1 = $0,36 \pm 0,08 \text{ m}^2$, T = $0,28 \pm 0,03 \text{ m}^2$, $P = 0,522$). Au cours du stress hydrique, la sécheresse imposée aux arbres S2 se développe rapidement en raison d'une surface foliaire importante et des conditions climatiques plus contraignantes (1^{ère} période de sécheresse : $T^{\circ}\text{C}_{\text{moy}} = 18,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, $T^{\circ}\text{C}_{\text{max}} = 32,5^{\circ}\text{C}$; 2^{ème} période de sécheresse : $T^{\circ}\text{C}_{\text{moy}} = 20,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, $T^{\circ}\text{C}_{\text{max}} = 34,5^{\circ}\text{C}$; différence significative entre les deux périodes, $P = 0,002$). En effet, les arbres S2 ont une surface foliaire significativement plus grande au début de la période de stress que les arbres S1 (début de stress S2 le 20 juillet : $0,29 \pm 0,01 \text{ m}^2$, début de stress S1 le 22 juin : $0,20 \pm 0,02 \text{ m}^2$; $P = 0,01$) (*figure III.17*). Un jaunissement de la totalité du feuillage intervient assez vite, suivi de leur chute (perte de surface foliaire totale : S2 = $0,12 \pm 0,03 \text{ m}^2$). Après réhydratation, les

Tableau III.4 : Nombre de feuilles produites (cumulé) en début de stress hydrique et en fin d'expérimentation (moyenne \pm SE ; n=6).

Année	Traitement	En début de traitement	En fin d'expérimentation
2004	Sécheresse1	24,2 \pm 1,6 (22/06/04)	35 \pm 4,2 (9/10/04)
	Sécheresse2	21,8 \pm 1,5 (30/07/04)	21,8 \pm 1,5 (9/10/04)
	Témoin	-	23,8 \pm 2,6 (9/10/04)

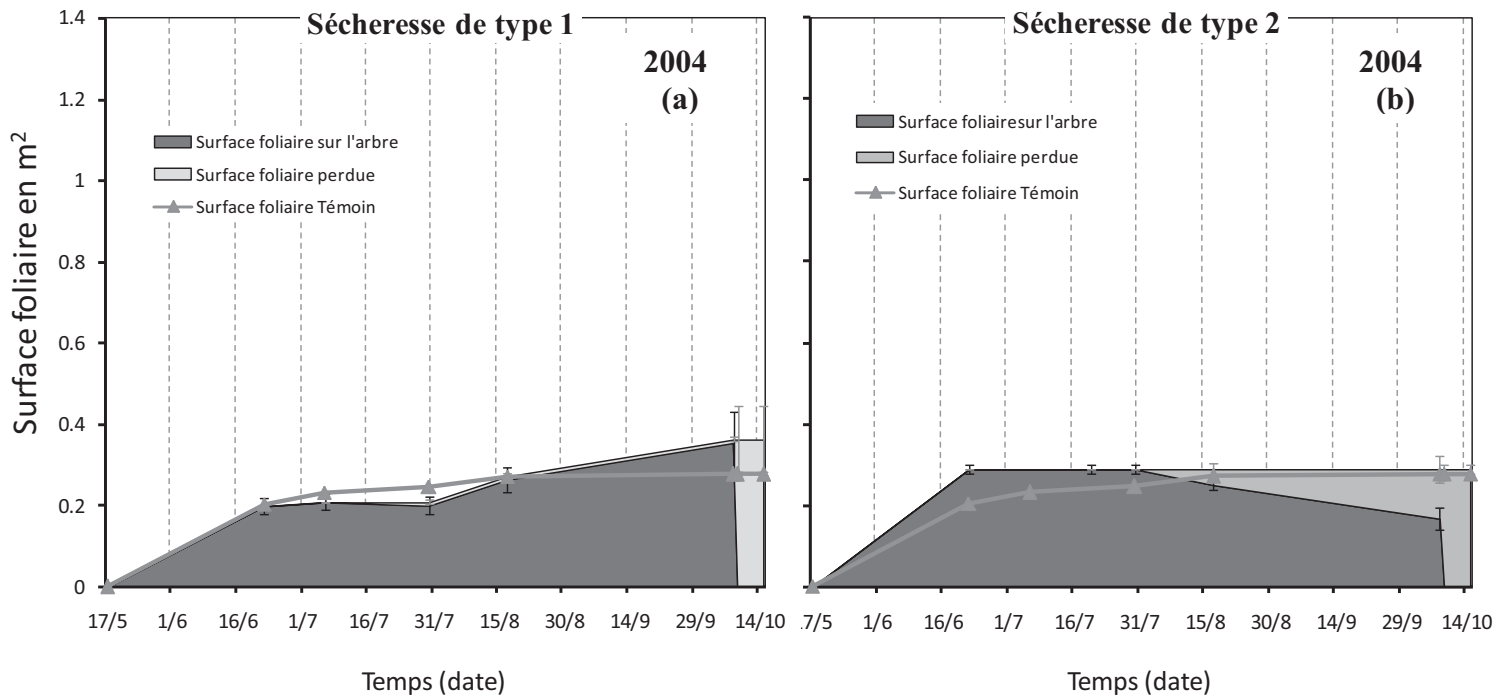


Figure III.17 : Evolution de la surface foliaire sur les arbres soumis à un stress hydrique. (a) Sécheresse de type 1 ; (b) Sécheresse de type 2 (moyenne \pm SE ; n=6).

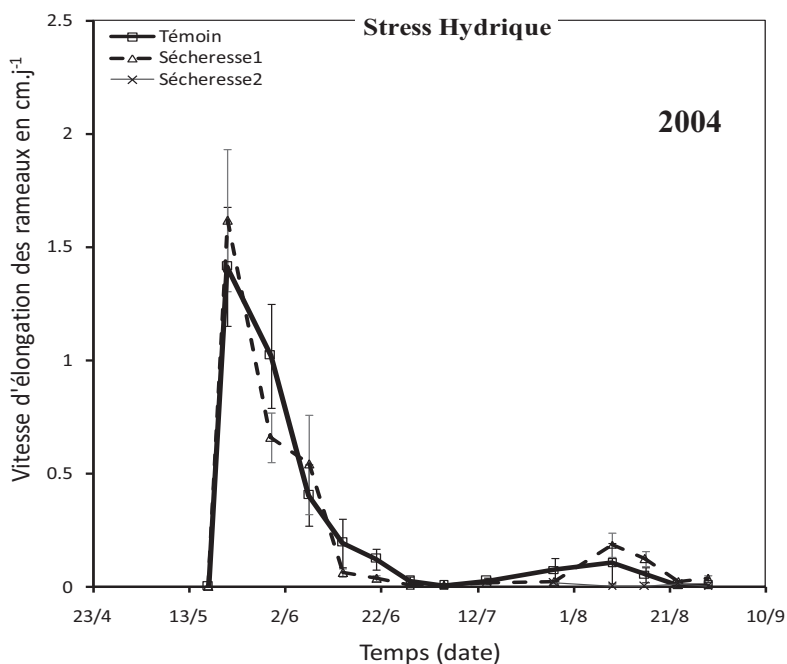


Figure III.18 : Evolution de la vitesse d'élongation des rameaux des arbres subissant les stress hydriques (moyenne \pm SE ; n=6).

arbres S2 ne réémettent pas de feuilles (*tableau III.4*).

Croissance en longueur des jeunes pousses :

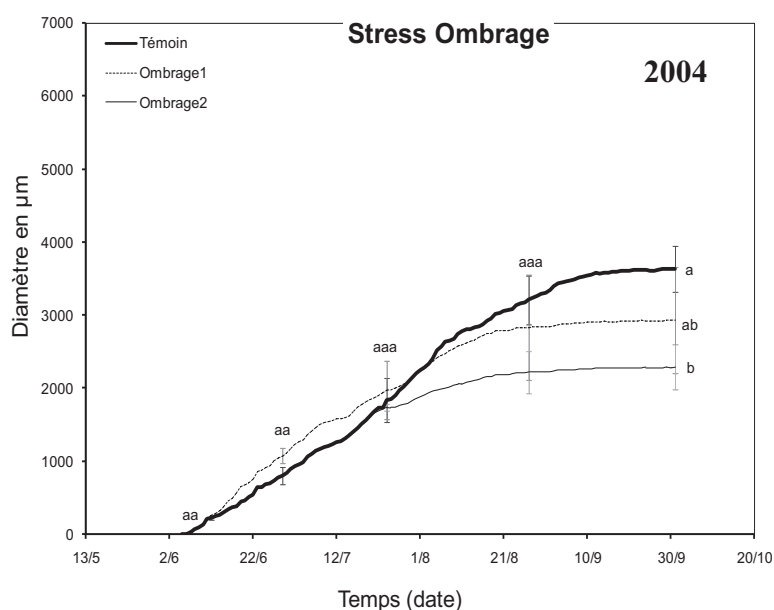
L'évolution de la croissance en longueur des rameaux des arbres soumis à différentes contraintes hydriques est montrée par la *figure III.18*.

Au cours des stress, les arbres S1 et S2 stoppent la croissance en longueur des rameaux. Pour les arbres S2, la deuxième phase de croissance active, que l'on peut observer pour les rameaux des arbres T ou S1 en fin de saison estivale de croissance, n'a pas lieu pour les arbres S2.

3.A.1.5 Traitement ombrage

Croissance en diamètre du tronc :

La croissance en diamètre des troncs des arbres soumis à une diminution de l'ensoleillement (PAR réduite par 4) est visualisée sur la *figure III.19*.



La croissance des troncs des arbres Ombrage1 (O1) n'est pas influencée par un ombrage en début de saison estivale de croissance. Les arbres s'adaptent. En final, elle n'est pas significativement différente de celle des troncs des arbres T (le 1^{er} octobre 2004, O1 = $0,29 \pm 0,07$ m², T = $0,36 \pm 0,03$ m² ; P = 0,275). Pour les arbres Ombrage2 (O2), on observe un ralentissement de la croissance en diamètre des troncs des arbres O2. Il aboutit à une

diminution significative de la prise de diamètre du tronc des arbres O2 (le 1^{er} octobre 2004, $O2 = 0,23 \pm 0,03 \text{ m}^2$, $T = 0,36 \pm 0,03 \text{ m}^2$; $P = 0,05$) (figure III.19).

Evolution de la surface foliaire et du nombre de feuilles :

L'évolution de la surface foliaire des arbres soumis à différents ombrages est montrée sur la figure III.20. Le tableau III.5 expose le nombre de feuilles présentes sur les arbres O1 et O2 en début et en fin de traitement.

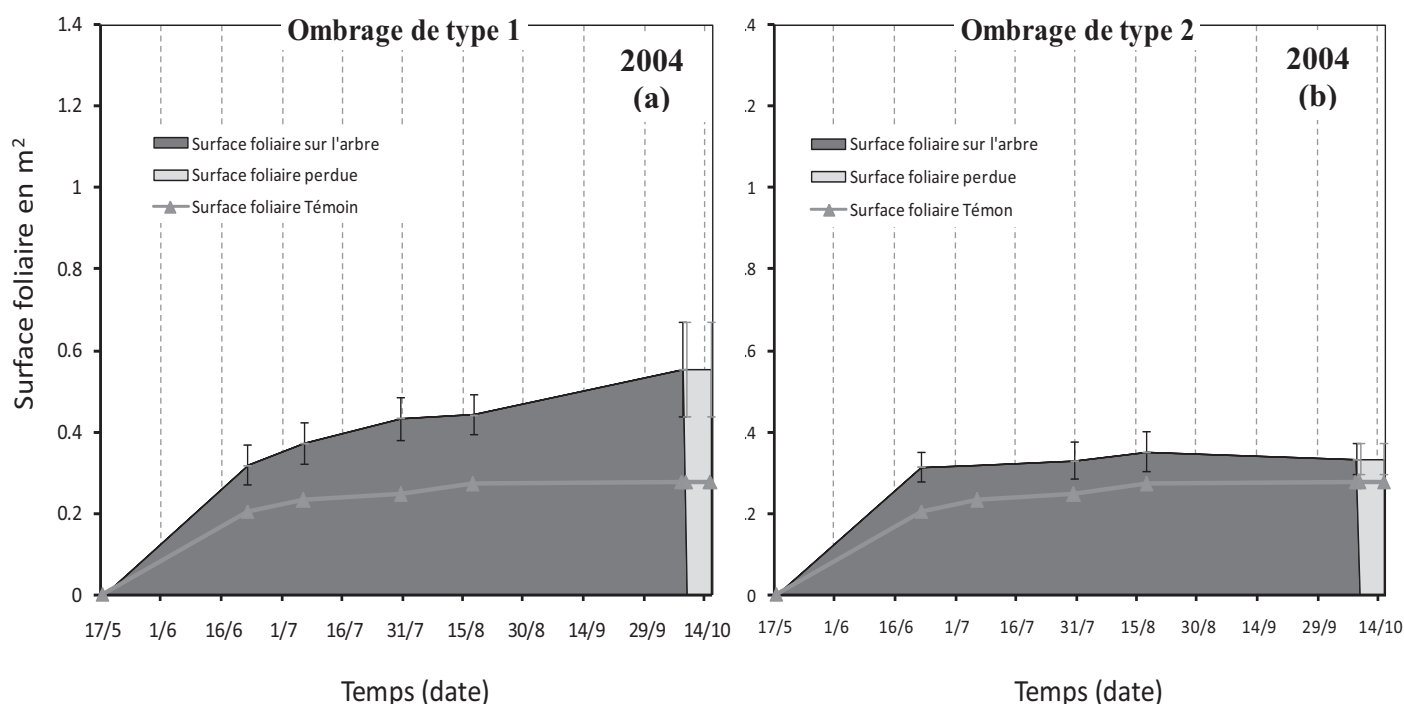


Figure III.20 : Evolution de la surface foliaire sur les arbres soumis à un stress ombrage. (a) Ombrage de type 1 ; (b) Ombrage de type 2 (moyenne \pm SE ; $n=6$).

En fin d'expérimentation, la surface foliaire des arbres O1 est significativement plus élevée que les arbres T (le 9 octobre 2004, $O1 = 0,55 \pm 0,12 \text{ m}^2$, $T = 0,28 \pm 0,03 \text{ m}^2$; significatif, $P = 0,016$). Mais cette augmentation de surface n'est pas due à une augmentation du nombre de feuilles sur l'arbre (tableau III.5, différence non significative entre le début et la fin du traitement, $P = 0,618$). Elle est provoquée par l'extension de la surface des feuilles préexistantes. Pour les arbres O2, il n'y a pas d'augmentation significative de la surface foliaire (le 30 juillet 2004 : $O2 = 0,33 \pm 0,05 \text{ m}^2$, le 9 octobre 2004 : $O2 = 0,33 \pm 0,04 \text{ m}^2$, $P = 0,873$) et du nombre de feuilles (tableau III.5, différence non significative entre le début et la fin du traitement, $P = 0,936$). En final, le nombre de feuilles présentes sur les arbres O1, O2 et

T ne sont pas significativement différents (le 9 octobre 2004, O1 et T : $P = 0,872$; O2 et T : $P = 0,746$).

Tableau III.5 : Nombre de feuilles sur les arbres en début de traitement d'ombrage et en fin d'expérimentation (moyenne \pm SE ; n=6).

Année	Traitement	En début de traitement	En fin d'expérimentation
2004	Ombrage1	$22,7 \pm 2,1$ (22/06/04)	$23,3 \pm 2,2$ (9/10/04)
	Ombrage2	$24,5 \pm 2,1$ (30/07/04)	$25 \pm 2,5$ (9/10/04)
	Témoin	-	$23,8 \pm 2,6$ (9/10/04)

Croissance en longueur des jeunes pousses :

La figure III.21 représente l'évolution de la vitesse d'élongation des rameaux soumis à différentes durées d'ombrage.

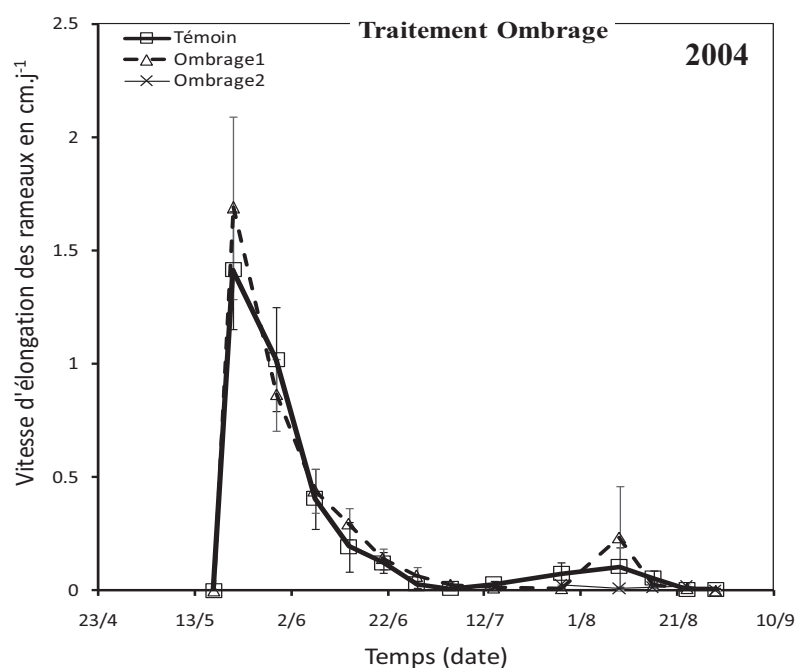


Figure III.21 : Evolution de la vitesse d'élongation des rameaux d'arbres subissant les traitements d'ombrage (moyenne \pm SE ; n=6).

La croissance en longueur des rameaux des arbres O1 n'est pas affectée par le stress ombrage (figure III.21). La courbe de croissance en longueur des rameaux O1 n'est pas significativement différente de celle des arbres T (à chaque point de la courbe, $P < 0,05$). On retrouve les deux phases de croissance active, et entre, la phase de repos. Par contre, chez les arbres O2, la deuxième phase de croissance active n'a pas lieu.

3.A.1.6 Récapitulation des effets des différents traitements sur le développement aérien des arbres

Plusieurs points se dégagent de ces différentes observations :

- En absence de contrainte :

La croissance en diamètre des troncs est constituée de deux phases : une phase active (du débourrement au début du mois d'août) et une phase à croissance réduite (au début du mois d'août jusqu'à la fin de l'expérimentation). La croissance en longueur des pousses présente, quant à elle, une alternance de phases actives de croissance et de repos. La surface foliaire des noyers se met en place rapidement après le débourrement. Dès la fin du mois de juin, la totalité de la surface foliaire est édifiée.

- Le traitement Carence azotée :

Une carence en azote précoce (N1) provoque un fort ralentissement de la croissance en diamètre des troncs des arbres, l'absence de la deuxième vague de croissance, une réduction significative de la surface foliaire des arbres (réduction du nombre de feuilles produites) et un jaunissement du feuillage. Lorsqu'elle intervient au cours de la saison estivale de croissance (N2), la carence en azote ne provoque, comme seul effet visible, qu'un léger jaunissement des feuilles.

- Le traitement Défoliation :

Une défoliation précoce (D1) et de mi-juillet (D2) provoquent une diminution importante de la croissance en diamètre du tronc, une production continue de feuilles (augmentation de la surface foliaire totale produite) avec une surface foliaire présente sur les arbres extrêmement réduite et une croissance en longueur des jeunes pousses toujours active. Le méristème apical reste actif très tardivement. Une défoliation tardive (D3) ne provoque pas d'émission de nouvelles feuilles ; le méristème apical est entré en dormance.

- Le traitement Annélation :

Le traitement Annélation provoque une légère augmentation du diamètre du tronc situé au dessus de l'anneau de décortication et une diminution significative de celui situé en dessous de l'anneau, une augmentation de la surface foliaire sans émission de nouvelles

feuilles avec une tendance à l'enroulement des feuilles sur elles-mêmes. Enfin, une seule vague de croissance en longueur est obtenue.

- Le traitement stress Hydrique :

Une contrainte hydrique en première (S1) ou en deuxième partie (S2) de saison estivale induit un arrêt quasiment immédiat de la croissance en diamètre du tronc et en longueur des pousses. Après réhydratation, seuls les arbres S1 reprennent une croissance en diamètre du tronc très active, réémettent des feuilles et présentent une seconde vague de croissance. Suite aux contraintes hydriques, de la surface foliaire est perdue : elle est beaucoup plus conséquente lorsque la contrainte hydrique est tardive (S2).

- Le traitement Ombrage :

Un ombrage précoce (O1) ne perturbe pas la croissance en diamètre du tronc et la croissance en longueur des jeunes pousses. La surface foliaire augmente sans émission de nouvelles feuilles. On peut donc penser que cette adaptation foliaire limite les impacts de ce traitement sur la croissance en diamètre et en longueur. A l'inverse, un ombrage tardif (O2) sans impact sur la surface foliaire (plus de possibilité d'adaptation à cette période) induit un ralentissement de la croissance en diamètre du tronc et provoque l'absence de la deuxième vague de croissance.

Pour conclure, le traitement défoliation précoce semble avoir le plus fort impact sur le développement du noyer en réduisant fortement la croissance en diamètre des troncs et la surface foliaire présente sur l'arbre. De plus, de la matière végétale est continuellement produite.

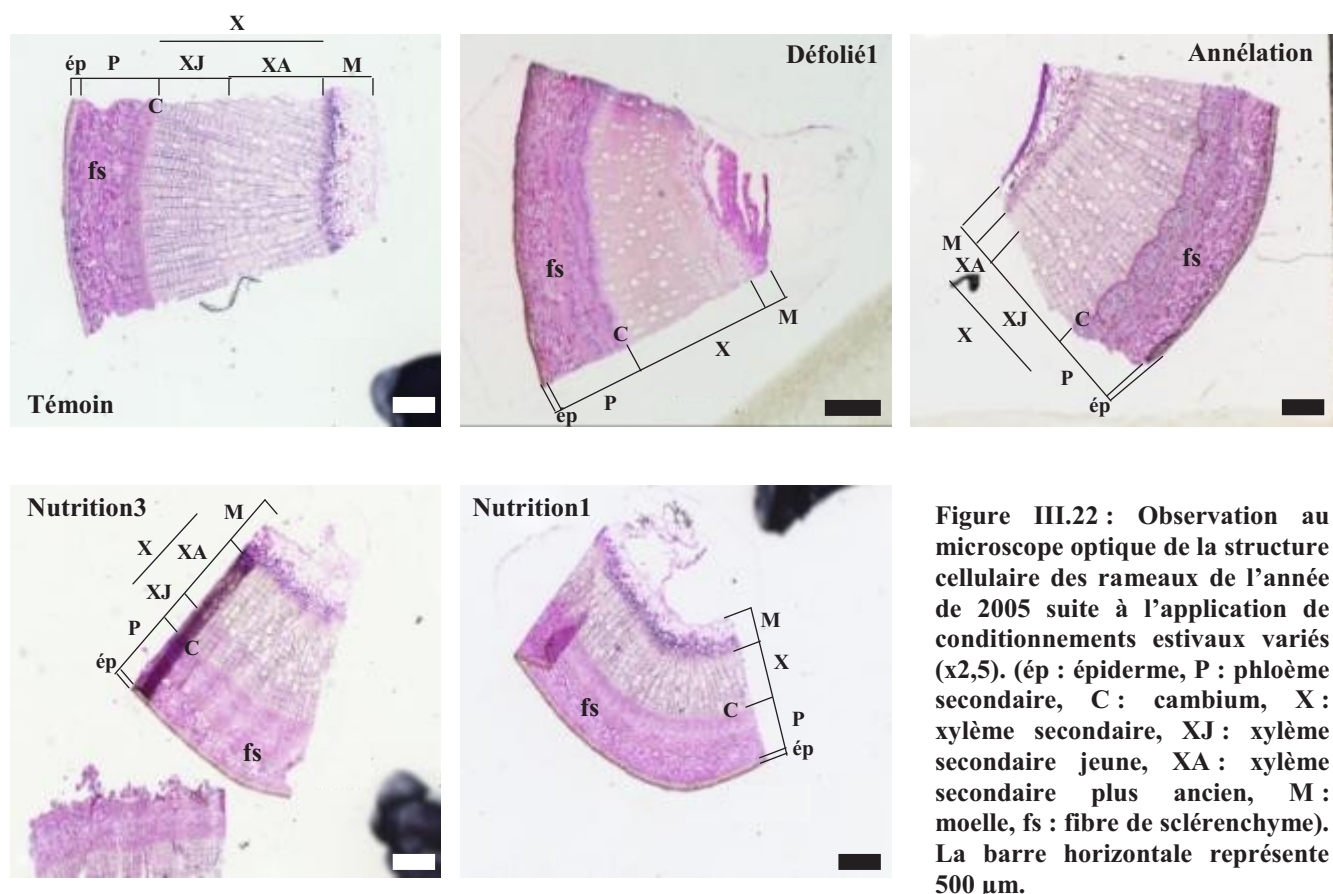


Figure III.22 : Observation au microscope optique de la structure cellulaire des rameaux de l'année de 2005 suite à l'application de conditionnements estivaux variés (x2,5). (ép : épiderme, P : phloème secondaire, C : cambium, X : xylème secondaire, XJ : xylème secondaire jeune, XA : xylème secondaire plus ancien, M : moelle, fs : fibre de sclérenchyme). La barre horizontale représente 500 µm.

Tableau III.A.6 : Répartition de la biomasse totale (sans les feuilles) et structurale chez un noyer témoin (moyenne des arbres T_{2004, 2005} et N3, \pm SE ; MS : Matière Sèche).

Organes	Biomasse totale (n = 30)		Biomasse structurale (n = 30)	
	g de MS	%	g de MS	%
Rameau	21,8 \pm 2,2	5,5 \pm 0,3	20,2 \pm 2,1	7,0 \pm 0,4
Tronc	61,5 \pm 4,5	15,9 \pm 0,6	55,9 \pm 4,3	19,5 \pm 0,7
Pivot	195,4 \pm 9,3	52,5 \pm 1,5	122,9 \pm 6,4	45 \pm 2
Grosses racines	55,2 \pm 7,4	13,2 \pm 1,1	40,5 \pm 5,6	13,1 \pm 1,1
Racines fines	48,6 \pm 2,8	12,9 \pm 0,4	42 \pm 2,4	15,4 \pm 0,6

Pas de différence significative de biomasse totale et de biomasse structurale entre les prélèvements.

3.A.2 Structure cellulaire des rameaux de l'année, des racines fines et du pivot de l'arbre soumis à différents conditionnements estivaux

Après l'application des différents traitements, nous avons voulu vérifier si la structure cellulaire des rameaux de l'année, des racines fines et du pivot était modifiée par les traitements.

Rameaux de l'année :

Les observations au microscope optique des rameaux de l'année sont visibles sur la *figure III.22*. Sur les coupes transversales des rameaux de l'année des arbres T, le xylème présente deux zones bien différenciées : le xylème formé en fin de saison de croissance et celui plus ancien formé au début de la saison de croissance. La partie du xylème des rameaux des arbres D1 est beaucoup moins large par rapport aux arbres T. On ne distingue plus la zone du xylème de fin de saison de croissance. Les rameaux des arbres G paraissent identiques à ceux des arbres T. Comme pour les arbres T, le xylème de fin de saison de croissance est visible. Contrairement aux rameaux des arbres N3, le xylème de fin de saison de croissance n'est pas visible dans les rameaux des arbres N1. La partie du xylème des rameaux des arbres N3 est beaucoup plus large par rapport à celle des rameaux des arbres N1.

Racines fines et pivot :

Les observations au microscope optique ne permettent pas de visualiser de différences de structure après l'application des différents traitements (*annexe A.4*).

3.A.3 Répartition de la biomasse et des glucides totaux chez un noyer témoin

Avant de s'intéresser à l'impact des différents conditionnements estivaux étudiés, nous allons regarder comment la biomasse et les glucides totaux se répartissent entre les différents organes des noyers témoins.

Le *tableau III.A.6* illustre la répartition de la biomasse (totale et structurale). Plus de 75% de la biomasse totale et plus de 70% de la biomasse structurale sont contenus dans les organes souterrains. Le pivot est l'organe principal de ces jeunes arbres. Il représente 53% de la biomasse totale et 45% de la biomasse structurale (*tableau III.6*). Les rameaux d'un an ont, quant à eux, une part très faible dans la biomasse totale (5,5%) et structurale (7%) de l'arbre.

Tableau III.A.7 : (a) Répartition de la quantité totale de glucides chez un noyer témoin. (b) Variation de la teneur en glucides (quantité de GFSA/biomasse structurale) chez un arbre témoin (GFSA : glucose, fructose, saccharose et amidon ; MSS : Matière Sèche Structurale) (moyenne des arbres T_{2004, 2005} et N3, \pm SE).

(a)	Organes	GFSA (n = 11)			
		Automne		Hiver	
		g	%	g	%
	Rameau	1,5 \pm 0,3	1,1 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	1,6 \pm 0,1
	Tronc	4,7 \pm 0,5	3,5 \pm 0,3	5,4 \pm 0,5	5,4 \pm 0,4
	Pivot	89,7 \pm 4,5	70,2 \pm 3,4	69 \pm 8,2	67,1 \pm 4,1
	Grosses racines	18,4 \pm 4,4	12,8 \pm 1,8	15,7 \pm 4,5	13,1 \pm 2,1
	Racines fines	18 \pm 4,5	12,4 \pm 1,9	15,4 \pm 4,5	12,8 \pm 2,2

(b)	Organes	GFSA (n = 11) en g.g ⁻¹ de MSS	
		Automne	Hiver
	Rameau	0,09 \pm 0,01	0,082 \pm 0,004
	Tronc	0,11 \pm 0,01	0,108 \pm 0,014
	Pivot	0,77 \pm 0,07	0,65 \pm 0,06
	Grosses racines	0,58 \pm 0,04	0,34 \pm 0,03
	Racines fines	0,38 \pm 0,05	0,31 \pm 0,06

Tableau III.A.8 : Variation du rapport Amidon/GFS entre les différents organes chez un arbre témoin (moyenne des arbres T_{2004, 2005} et N3, \pm SE).

Organes	Rapport Amidon/Sucres solubles (n = 11)	
	Automne	Hiver
Rameau	2,6 \pm 0,2	0,25 \pm 0,02
Tronc	3,3 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1
Pivot	8,4 \pm 0,7	2,5 \pm 0,2
Grosses racines	6,9 \pm 0,4	1,7 \pm 0,1
Racines fines	3,0 \pm 0,2	1,2 \pm 0,1

Les *tableaux III.A.7 (a) et (b)* présentent la répartition des glucides totaux (GFSA : Glucose + Fructose + Saccharose + Amidon) entre les organes des arbres témoins. Les organes souterrains contiennent 95% des glucides de l'arbre et ont des teneurs en GFSA (ramenées à la biomasse structurale) plus élevées que celles des organes aériens. De plus, quelle que soit la saison (automne ou hiver), plus de 65% des réserves glucidiques sont contenus dans le pivot (*tableau III.A.7 (a)*).

Le pivot est donc le principal organe de réserve, comme l'indiquait déjà la forte variation de ces proportions lorsque l'on compare biomasse totale et structurale (*tableau III.A.6 et III.A.7*).

Le *tableau III.A.8* présente les variations du rapport Amidon/Sucres solubles entre les différents organes des arbres témoins. A l'automne, ce rapport est très supérieur à 1. Les réserves sont principalement sous forme de réserve amyliacée, en particulier dans le pivot et les grosses racines. En hiver, la valeur de ce rapport diminue fortement, caractérisant l'hydrolyse de l'amidon en sucres solubles. Dans les organes aériens, cette valeur devient inférieure à 1 (contre 3,5, l'automne). On retrouve donc principalement des sucres solubles dans les organes aériens. Dans les organes souterrains, l'amidon reste la forme principale avec là encore, une valeur du rapport la plus élevée pour le pivot.

3.A.4 Variation de la biomasse et de la quantité de glucides à l'échelle de l'arbre soumis à différents conditionnements estivaux

Nous avons, par la suite, regardé si les différents traitements estivaux avaient un impact sur la biomasse totale (avec ou sans les feuilles) de l'arbre. Le *tableau III.A.9* présente ces résultats. Seuls les traitements suivants : défoliation précoce (D1) et tardive (D2), ombrage précoce (O1), sécheresse tardive (S2), carence en azote précoce (N1) réduisent de manière significative la biomasse totale de l'arbre (avec ou sans les feuilles). Pour le traitement défoliation, on observe logiquement que, plus la durée de la défoliation est longue, plus la perte de poids de l'arbre est grande. Pour le traitement Annélation (G), si on ne prend pas en compte les feuilles, on peut remarquer une diminution significative de la biomasse de l'arbre. En revanche, si on les inclue, la biomasse totale n'est plus significativement différente de celle du témoin. On peut donc en déduire que la biomasse (en particulier, les glucides) produite par les feuilles n'est pas redistribuée dans l'arbre (*tableau III.A.9*).

Ensuite, nous nous sommes intéressé à l'impact des traitements estivaux imposés sur

Tableau III.A.9 : Variation de la biomasse totale (avec ou sans les feuilles) de l'arbre, exprimée en g de matière sèche (MS), suite à l'application des divers traitements culturaux durant la saison estivale de croissance (D : Défoliation, S : Sécheresse, N : Nutrition (carence azotée), O : Ombrage, G : Annélation et T : Témoin). Moyenne, \pm SE, n=6 en 2004 et n_{D1} et T=15, n_N=9 et n_G=8 en 2005. NS : non significatif, * : significatif et P<0,05, ** : significatif et P<0,01 et *** : significatif et P<0,0001.

Traitements	Année d'expérimentation	Biomasse totale (Ram+Tr+Pvt+GR+RF+feuille)		Biomasse totale (Ram+Tr+Pvt+GR+RF)	
T	2004-2005	301,0 \pm 21,0		269,1 \pm 18,8	
D1		128,1 \pm 7,6	***	81,5 \pm 5,9	**
D2		213,3 \pm 14	**	166,7 \pm 15,5	**
D3		270,1 \pm 31,8	NS	230,7 \pm 26,2	NS
O1		207,1 \pm 29,5	*	169,0 \pm 23,6	**
O2		251,6 \pm 31,7	NS	215,6 \pm 28,1	NS
S1		253,2 \pm 16,4	NS	212,3 \pm 13,6	NS
S2		243,5 \pm 14,3	*	210,2 \pm 14,1	*
T	2005-2006	474,7 \pm 38,7		411,4 \pm 35,2	
D1		224,5 \pm 11,3	***	153,9 \pm 8	***
G		443,2 \pm 31,0	NS	254,6 \pm 18,8	**
N3		476,9 \pm 38,4	NS	409,9 \pm 32,4	NS
N1		310,5 \pm 21,9	**	272,8 \pm 20,8	**
N2		478,1 \pm 53,0	NS	415,0 \pm 48,5	NS

Tableau III.A.10 : Variation de la quantité totale de glucides (GFSA, exprimée en g) de l'arbre suite à l'application des traitements culturaux durant la saison estivale de croissance. (D : Défoliation, S : Sécheresse, N : Nutrition (carence azotée), O : Ombrage et T : Témoin). Moyenne, \pm SE, n=3 en 2004 et n_{D1}, T=5 et n_N=3 en 2005. NS : non significatif, * : significatif et P<0,05, ** : significatif et P<0,01 et *** : significatif et P<0,0001. Les glucides de la partie basse du tronc des arbres girdling n'ayant pas été dosés, ce traitement n'est pas présenté ici.

Traitements		Année d'expérimentation	Quantité totale de glucides (Ram+Tr+Pvt+GR+RF)			
			Automne		Hiver	
T	NS	2004-2005	112,7 ± 4,2		90,6 ± 16,4	
D1	*		13,6 ± 4,4	*	3,9 ± 0,1	*
D2	*		52,1 ± 17,3	*	17,8 ± 2,6	*
D3	*		94,1 ± 4,9	*	39 ± 3	*
O1	*		55,6 ± 10,3	*	34,7 ± 3,2	*
O2	NS		66,1 ± 3,2	*	69,0 ± 16,8	NS
S1	NS		82,9 ± 18,9	NS	62,8 ± 4,9	*
S2	*		80,1 ± 2,6	*	53 ± 6	*
T	NS	2005-2006	144,6 ± 26		118,4 ± 28,5	
D1	NS		6,7 ± 2,1	**	8,3 ± 1,1	**
N3	NS		130,8 ± 8,8	NS	104,9 ± 34	NS
N1	NS		109,5 ± 22,5	NS	105,8 ± 19,2	NS
N2	NS		183,4 ± 57,2	NS	142,5 ± 10,8	NS

la quantité totale de glucides de l'arbre. Le *tableau III.A.10* illustre ces résultats. A l'automne, la majorité des traitements, à l'exception des traitements S1, N1, N2 et N3, diminue significativement l'accumulation des réserves glucidiques dans l'arbre. En hiver, seuls les traitements défoliations (D1, D2, et D3), sécheresses (S1 et S2) et ombrage précoce (O1) abaissent significativement la quantité totale de glucides dans l'arbre par rapport au témoin. Par ailleurs, plus la durée du traitement est longue, plus cette réduction est grande. Pour la majorité des traitements, on observe une diminution automno-hivernale de la quantité en GFSA dans l'arbre (en moyenne, perte de 22 ± 4 g de GFSA). A cause de la faiblesse du test statistique non paramétrique utilisé (test de Mann et Whitney), cette différence n'est pas significative pour les arbres présentant une teneur en sucres solubles élevée (T, O2, S1, N3, N1 et N2).

3.A.5 Variation de la répartition de la biomasse structurale dans les différents organes soumis à divers traitements estivaux

Après avoir regardé l'effet des différents traitements estivaux sur la biomasse (totale et structurale) et les glucides totaux de l'arbre dans sa globalité, nous allons maintenant étudier l'impact des conditionnements sur les différents organes de l'arbre. Le *tableau III.A.11* et *III.A.12* présente la répartition de la biomasse structurale dans les différents organes des arbres soumis à divers traitements durant l'été.

Les traitements de défoliation très tardive (D3), d'absence de carence en azote (N3), de sécheresse tardive (S2) et d'ombrage tardif (O2) n'ont aucun effet sur la biomasse structurale de l'arbre et sur sa répartition dans les différents organes.

Ensuite, le traitement de sécheresse précoce (S1) a un effet seulement sur la biomasse structurale du pivot (-24%) sans modifier, pour autant, la répartition de celle-ci dans l'arbre.

Les traitements défoliation tardive (D2), carence azotée précoce (N1), ombrage précoce (O1) et annélation (G) ont un effet sur la biomasse structurale de certains organes de l'arbre avec modification de la répartition de cette dernière au sein de l'arbre. Parmi ceux-ci, les traitements G et N1 ont le plus fort impact. Pour ces deux traitements, la biomasse structurale diminue significativement dans les racines fines (G : -71% ; N1 : -36%), les grosses racines (G : -55% ; N1 : -53%), le pivot (G : -36% ; N1 : -29%). Par contre, elle augmente pour les rameaux du traitement annélation (+36%), alors qu'elle diminue pour le conditionnement N1 (-57%). Si on s'intéresse à la répartition de la biomasse entre chaque

Tableau III.A.11 : Variation de la biomasse structurale (exprimée en g de MS) dans les différents organes suite à l'application des traitements culturaux durant la saison estivale de croissance. (D : Défoliation, G : Annélation, S : Sécheresse, N : Nutrition (carence azotée), O : Ombrage et T : Témoin). Moyenne, \pm SE, n=6 en 2004 et n_{D1, T}=15 et n_{G et N}=9 (n_G=8, pour le tronc) en 2005. NS : non significatif, * : significatif et P<0,05, ** : significatif et P<0,01 et *** : significatif et P<0,0001.

	<i>a' experimentation</i>		<i>racines</i>			<i>l'annee</i>
<i>T</i>	2004-2005	31,1 \pm 3,5	13,6 \pm 1,5	85,8 \pm 6,3	24 \pm 2,1	13,1 \pm 1,8
<i>D1</i>		3,4 \pm 0,3 *** \downarrow	4,6 \pm 1,1 *** \downarrow	38,5 \pm 3 *** \downarrow	18,6 \pm 2,1 * \downarrow	7,6 \pm 0,8 * \downarrow
<i>D2</i>		16,5 \pm 0,6 *** \downarrow	9,1 \pm 1 * \downarrow	68,2 \pm 6,9 * \downarrow	23,4 \pm 1,1 NS	14,5 \pm 1,3 NS
<i>D3</i>		31,7 \pm 4,4 NS	17,1 \pm 4,1 NS	74,2 \pm 3,3 NS	25,7 \pm 3,4 NS	15,4 \pm 3,5 NS
<i>S1</i>		26,8 \pm 2,3 NS	12,1 \pm 1,4 NS	64,8 \pm 4,6 * \downarrow	23,4 \pm 1,1 NS	12,3 \pm 2,1 NS
<i>S2</i>		27,3 \pm 2,6 NS	10,8 \pm 1,7 NS	71,8 \pm 6,1 NS	23,6 \pm 1,5 NS	10,1 \pm 1,2 NS
<i>O1</i>		15,4 \pm 4,9 * \downarrow	9,5 \pm 2,4 NS	57,4 \pm 7,2 * \downarrow	28,4 \pm 4,7 NS	13,1 \pm 2,6 NS
<i>O2</i>		22,1 \pm 4,7 NS	12,4 \pm 2,8 NS	74,8 \pm 11,8 NS	25,3 \pm 2,2 NS	13,5 \pm 2,6 NS
<i>T</i>	2005-2006	45,4 \pm 3,7	42,5 \pm 7,5	135,1 \pm 8,1	63,4 \pm 5	22,3 \pm 3,5
<i>D1</i>		7,6 \pm 0,9 *** \downarrow	10,3 \pm 1,2 *** \downarrow	73,4 \pm 5,2 *** \downarrow	40,5 \pm 2,7 *** \downarrow	14,1 \pm 1,1 * \downarrow
<i>G</i>		13,2 \pm 1,7 *** \downarrow	19,2 \pm 2,9 * \downarrow	86,5 \pm 9,5 *** \downarrow	61,7 \pm 5,8 NS	30,3 \pm 4,1 * \uparrow
<i>N3</i>		43,6 \pm 3,4 NS	55,2 \pm 11,1 NS	125,6 \pm 11,6 NS	64,7 \pm 6,3 NS	21,4 \pm 3,4 NS
<i>N1</i>		27,9 \pm 2,9 *** \downarrow	26,2 \pm 5,9 *** \downarrow	88,8 \pm 8,5 * \downarrow	43 \pm 4 **	9,1 \pm 1,2 *** \downarrow
<i>N2</i>		39,1 \pm 4,1 NS	39 \pm 7,4 NS	131,5 \pm 13,1 NS	67,1 \pm 7,4 NS	24,1 \pm 5,7 NS

Tableau III.A.12 : Répartition de la biomasse structurale (exprimée en %) dans les différents organes suite à l'application des traitements culturaux durant la saison estivale de croissance (pour la légende cf.figure III.A.11). Pour N3, la comparaison statistique a été réalisée avec T₂₀₀₅, pour N1 et N2 avec N3.

	<i>a' experimentation</i>		<i>racines</i>			<i>l'annee</i>
<i>T</i>	2004-2005	18 \pm 1	8 \pm 1	51 \pm 2	14 \pm 1	8 \pm 1
<i>D1</i>		4,7 \pm 0,4 *** \downarrow	6 \pm 1 NS	53 \pm 3 NS	26 \pm 3 * \uparrow	11 \pm 1 * \uparrow
<i>D2</i>		13 \pm 1 *** \downarrow	7 \pm 1 NS	51 \pm 3 NS	18 \pm 1 NS	11 \pm 1 * \uparrow
<i>D3</i>		19 \pm 1 NS	10 \pm 1 NS	46 \pm 3 NS	15 \pm 1 NS	9 \pm 1 NS
<i>S1</i>		19 \pm 1 NS	9 \pm 1 NS	46 \pm 2 NS	17 \pm 1 NS	9 \pm 1 NS
<i>S2</i>		19 \pm 1 NS	8 \pm 1 NS	50 \pm 1 NS	17 \pm 1 NS	7 \pm 1 NS
<i>O1</i>		11 \pm 2 * \downarrow	7 \pm 1 NS	48 \pm 3 NS	23 \pm 2 * \uparrow	10 \pm 1 * \uparrow
<i>O2</i>		14 \pm 2 NS	8 \pm 1 NS	51 \pm 3 NS	18 \pm 1 NS	9 \pm 1 NS
<i>T</i>	2005-2006	15 \pm 1	13 \pm 2	45 \pm 2	21 \pm 1	7 \pm 1
<i>D1</i>		5 \pm 1 *** \downarrow	7 \pm 1 *** \downarrow	50 \pm 2 NS	28 \pm 2 *** \uparrow	9,6 \pm 0,5 * \uparrow
<i>G</i>		6 \pm 1 *** \downarrow	9 \pm 1 NS	42 \pm 3 NS	28 \pm 1 *** \uparrow	14 \pm 1 * \uparrow
<i>N3</i>		14 \pm 1 NS (/T)	17 \pm 2 NS (/T)	41 \pm 3 NS (/T)	21 \pm 1 NS (/T)	7 \pm 1 NS (/T)
<i>N1</i>		14 \pm 1 NS (/N3)	13 \pm 2 NS (/N3)	46 \pm 3 NS (/N3)	22 \pm 1 NS (/N3)	4,6 \pm 0,4 * \downarrow (/N3)
<i>N2</i>		13 \pm 1 NS (/N3)	12 \pm 1 NS (/N3)	44 \pm 2 NS (/N3)	22 \pm 1 NS (/N3)	7 \pm 1 NS (/N3)

organe, le pourcentage diminue pour les fines racines. Il est augmenté pour le tronc et les rameaux d'un an du traitement G. A l'inverse, pour N1, ce pourcentage diminue dans les rameaux, alors qu'il est conforme au témoin pour les autres organes. Pour D2 et O1, la biomasse structurale diminue de manière significative uniquement dans les organes souterrains (racines fines : -47% pour D2 et -50% pour O1; grosses racines : -33% pour D2 et -50% pour O1 ; pivot : -21% pour D2 et -33% pour O1). Par contre, seule la répartition entre les rameaux d'un an (également le tronc pour O1) et les racines fines est modifiée. Le pourcentage de biomasse structurale alloué aux racines fines est réduit, alors qu'il est augmenté pour les rameaux (également le tronc pour O1).

Enfin, le traitement D1 a un effet très négatif sur la quantité de biomasse structurale de l'ensemble des organes (racines fines : -89% en 2004 et -83% en 2005 ; grosses racines : -66% en 2004 et -76% en 2005 ; pivot : -55% en 2004 et -46% ; tronc : -22% en 2004 et -36% en 2005 ; rameaux d'un an : -42% en 2004 et -37% en 2005). La part des organes souterrains (racines fines et grosses racines, en particulier pour l'expérimentation de 2005-2006) est diminuée au profit de celle des organes de la partie aérienne.

3.A.6 Variation des teneurs en glucides dans les organes des arbres soumis à différents conditionnements estivaux

Pour chaque traitement, nous avons étudié les variations de la teneur en glucides (GFSA : Glucose + Fructose + Saccharose + Amidon en mg.g^{-1} de Matière Sèche Structurale (MSS)) induites par les traitements.

A l'automne, certains traitements n'ont pas d'effet significatif sur cette teneur en glucides, comme les traitements de défoliation très tardive (D3), de carence azotée précoce (N1), de sécheresse précoce (S1) et tardive (S2) (*tableau III.A.13*). D'autres traitements ont seulement un impact négatif sur la teneur en GFSA de certains organes. Ainsi, pour un ombrage précoce (O1), la diminution est significative uniquement pour le pivot (-27%), alors que pour un ombrage tardif (O2), elle est significative pour le pivot (-30%) mais aussi pour les racines fines (-27%). Le traitement annélation (G) produit, quant à lui, une diminution de la teneur en glucides pour tous les organes souterrains (pivot : -76% ; grosses racines : -79% et fines racines : -76%) qui contraste avec un impact positif sur les organes aériens, ceux situés au dessus de la décortication annulaire (tronc : +345% et rameaux : +92%). Impact positif que l'on observe également pour le pivot du traitement de carence azotée tardive (N2) (+56%) (*tableau III.A.13*).

Tableau III. A.13: Evolution automno-hivernale de la teneur en glucides (mg.g⁻¹ de MSS) des organes de jeunes noyers soumis à différents traitements durant la saison estivale de croissance (pour la légende cf.figure III.A.11). Moyenne, ± SE, n=3 en 2004 et n=5 en 2005 (tronc haut, n_{Gautomme}=4). Les résultats de l'analyse statistique sont indiqués : la comparaison entre les traitements et le témoin sont matérialisés par un astérisque (*). NS : non significative, 1 signe : significatif et P<0,05, 2 signes : significatif et P<0,01. L'évolution automno-hivernale du rapport est significative (<0,05) lorsque la valeur hivernale est en gras.

2004 - 2005

Saison	Organes		Stress	Racines fines	Grosses racines	Pivot	Tronc	Rameaux de l'année
Automne	<i>T</i>			230 ± 12	681 ± 68	1101 ± 33	136 ± 13	117 ± 15
	<i>D1</i>			164 ± 31 NS	266 ± 30 *↓	222 ± 64 *↓	60 ± 22 *↓	92 ± 14 NS
	<i>D2</i>			192 ± 28 NS	288 ± 53 *↓	549 ± 130 *↓	92 ± 9 *↓	90 ± 8 NS
	<i>D3</i>			191 ± 20 NS	484 ± 80 NS	956 ± 124 NS	113 ± 5 NS	105 ± 27 NS
	<i>S1</i>			211 ± 25 NS	650 ± 137 NS	1139 ± 177 NS	126 ± 7 NS	106 ± 16 NS
	<i>S2</i>			232 ± 19 NS	676 ± 124 NS	855 ± 223 NS	128 ± 29 NS	110 ± 21 NS
	<i>O1</i>			193 ± 10 NS	450 ± 130 NS	802 ± 74 *↓	103 ± 15 NS	107 ± 8 NS
	<i>O2</i>			169 ± 14 *↓	514 ± 121 NS	785 ± 108 *↓	105 ± 10 NS	131 ± 37 NS
Hiver	<i>T</i>			185 ± 22	456 ± 52	826 ± 70	175 ± 24	100 ± 5
	<i>D1</i>			57 ± 10 *↓	31 ± 3 *↓	80 ± 5 *↓	33 ± 6 *↓	44 ± 6 *↓
	<i>D2</i>			81 ± 14 *↓	85 ± 13 *↓	203 ± 40 *↓	80 ± 7 *↓	74 ± 8 *↓
	<i>D3</i>			112 ± 3 *↓	218 ± 48 *↓	424 ± 66 *↓	87 ± 10 *↓	73 ± 7 *↓
	<i>S1</i>			204 ± 23 NS	407 ± 68 NS	658 ± 90 NS	107 ± 9 *↓	97 ± 3 NS
	<i>S2</i>			160 ± 24 NS	361 ± 93 NS	645 ± 104 NS	111 ± 9 *↓	93 ± 2 NS
	<i>O1</i>			141 ± 28 NS	261 ± 55 *↓	495 ± 112 NS	94 ± 3 *↓	98 ± 6 NS
	<i>O2</i>			156 ± 8 NS	280 ± 11 *↓	745 ± 112 NS	103 ± 5 *↓	87,4 ± 0,2 *↓

2005 - 2006

Saison	Organes		Stress	Racines fines	Grosses racines	Pivot	Tronc	Rameaux de l'année
Automne	<i>T</i>			159 ± 26	439 ± 84	570 ± 73	120 ± 32	86 ± 10
	<i>D1</i>			35 ± 8 **↓	58 ± 22 **↓	89 ± 23 **↓	32 ± 9 **↓	56 ± 16 NS
	<i>G</i>			66 ± 20 *↓	90 ± 6 *↓	139 ± 35 *↓	532 ± 149 *↗	165 ± 10 *↗
	<i>N3</i>			208 ± 11 NS	599 ± 75 NS	490 ± 95 NS	188 ± 42 NS	100 ± 19 NS
	<i>N1</i>			276 ± 39 NS	513 ± 79 NS	536 ± 118 NS	256 ± 53 NS	149 ± 20 NS
	<i>N2</i>			260 ± 25 NS	544 ± 32 NS	766 ± 22 *↗	171 ± 70 NS	83 ± 5 NS
Hiver	<i>T</i>			117 ± 11	270 ± 44	673 ± 146	98 ± 20	75 ± 0,14
	<i>D1</i>			36 ± 7 **↓	43 ± 13 **↓	90 ± 28 **↓	35 ± 9 **↓	32 ± 11 *↓
	<i>G</i>			75 ± 28 NS	117 ± 40 *↓	326 ± 131 *↓	334 ± 74 *↗	85 ± 13 NS
	<i>N3</i>			124 ± 19 NS (/T)	272 ± 64 NS (/T)	630 ± 148 NS (/T)	73 ± 10 NS (/T)	52 ± 8 NS (/T)
	<i>N1</i>			223 ± 10 *↗ (/N3)	398 ± 93 NS (/N3)	600 ± 156 NS (/N3)	88 ± 5 NS (/N3)	91 ± 14 NS (/N3)
	<i>N2</i>			164 ± 10 NS (/N3)	387 ± 71 NS (/N3)	550 ± 123 NS (/N3)	87 ± 7 NS (/N3)	64 ± 13 NS (/N3)

Enfin, les traitements défoliations ont le plus fort impact sur les organes aériens et souterrains. Une défoliation tardive (D2) diminue significativement la teneur en glucides des grosses racines (-58%), du pivot (-80%) et du tronc (-56%). Une défoliation précoce (D1) réduit significativement la teneur en glucides des racines fines en 2005 (-78%), des grosses racines (-61% en 2004 et -87% en 2005), du pivot (-80% en 2004 et -84% en 2005) et du tronc (-56% en 2004 et -73% en 2005) (*tableau III.A.13*).

En hiver, seuls les traitements N2 et N3 n'ont pas de différence significative de teneur en glucides avec le témoin. Les traitements défoliations ont un effet de diminution des teneurs en glucides sur tous les organes de l'arbre avec une intensité d'autant plus forte que la durée de la défoliation est longue (*tableau III.A.13*). D'autres traitements ont un impact sur la teneur en glucides de certains organes. En effet, les traitements de sécheresse précoce (S1) et de sécheresse tardive (S2) diminuent significativement la teneur en GFSA dans le tronc (S1 : -39% et S2 : -37%). Pour les traitements d'ombrage, la diminution est significative dans le tronc (O1 : -46% et O2 : -41%) et les grosses racines (O1 : -43% ; O2 : -39%), mais également dans les rameaux pour l'ombrage tardif (O2) (-13%). Pour le traitement annélation (G), elle est significativement plus faible pour la partie racinaire (pivot : -52% ; grosses racines : -57%) et toujours significativement plus forte pour le tronc (+240%). Le traitement carence azotée précoce (N1) augmente lui aussi significativement la teneur en glucides dans les racines fines (+79%) (*tableau III.A.13*). Pour la majorité des traitements et des organes, on observe une diminution des teneurs en GFSA entre l'automne et l'hiver. Pour certains organes et certains traitements, cette diminution est significative : en absence de contrainte, les grosses racines (-33%) et le pivot (-25%) des témoins de 2004, ainsi que les rameaux (-48%), le tronc (-61%), les grosses racines (-55%) et les racines fines (-40%) des arbres N3 présentent une réduction significative de la teneur en glucides entre l'automne et l'hiver. Pour le traitement D1 de 2004, la diminution est significative dans les racines fines (-65%), les grosses racines (-88%), le pivot (-64%) et les rameaux d'un an (-51%). Pour les traitements D2 et D3, cette réduction est significative dans les organes souterrains (racines fines : -58% et -41%, respectivement ; grosses racines : -70% et -55%, respectivement ; pivot : -63% et -56%, respectivement). Pour le traitement N1, la réduction de teneur en glucides est significative dans les organes aériens (tronc : -66% ; rameaux d'un an : -39%). Pour le traitement N2, elle est significative dans les racines fines (-37%) et le tronc (-49%). Elle est significative uniquement dans le pivot (-42%) pour le traitement S1, dans les grosses racines (-47%) pour le traitement S2 et dans les rameaux d'un an (-48%) pour le traitement G (*tableau III.A.13*).

Pour les autres traitements, il n'y a pas de différence de teneur en GFSA entre

Tableau III.A.14 : Evolution automno-hivernale du rapport $\frac{\text{Amidon}}{\text{GFS}}$ des organes de l'arbre après l'application des traitements estivaux (D : Défoliation, G : Annélation, S : Sécheresse, N : Nutrition (carence azotée), O : Ombrage et T : Témoin). Moyenne, \pm SE, n=3 en 2004 et n=5 en 2005. Les résultats de l'analyse statistique de la comparaison entre les traitements et le témoin sont indiqués par un astérisque (*). NS : non significative, 1 signe : significatif et $P < 0,05$, 2 signes : significatif et $P < 0,01$. L'évolution automno-hivernale du rapport est significative pour l'ensemble des traitements ($< 0,05$), sauf pour les racines fines de D1₂₀₀₅, ainsi que pour le pivot, les fines et grosses racines de G.

2004-2005

Saison	Organes		Stress	Racines fines	Grosses racines	Pivot	Tronc	Rameaux de l'année
Automne	T			3,6 \pm 0,4	8,3 \pm 0,8	8,8 \pm 1	3,9 \pm 0,6	3,2 \pm 0,5
	D1			3,2 \pm 0,3 NS	4,5 \pm 1 * \downarrow	0,9 \pm 0,04 * \downarrow	2,8 \pm 0,7 NS	2,6 \pm 0,3 NS
	D2			3,3 \pm 0,3 NS	5,9 \pm 0,3 * \downarrow	3,5 \pm 0,8 * \downarrow	3,9 \pm 0,5 NS	2,9 \pm 0,2 NS
	D3			3,4 \pm 0,3 NS	6,3 \pm 0,2 * \downarrow	5,5 \pm 0,6 * \downarrow	4,6 \pm 0,8 NS	2,9 \pm 0,3 NS
	S1			3 \pm 0,4 NS	8,1 \pm 0,6 NS	7,9 \pm 1,8 NS	3,8 \pm 0,8 NS	2,3 \pm 0,4 NS
	S2			3,6 \pm 0,6 NS	7,3 \pm 0,8 NS	6,6 \pm 0,4 * \downarrow	3 \pm 0,4 NS	2,6 \pm 0,8 NS
	O1			3,1 \pm 0,3 NS	7,9 \pm 0,8 NS	6,6 \pm 0,9 NS	3,6 \pm 0,4 NS	2,7 \pm 0,2 NS
	O2			3,1 \pm 0,4 NS	7,7 \pm 1,1 NS	7,1 \pm 1,2 NS	4 \pm 0,3 NS	2,8 \pm 0,7 NS
Hiver	T			1,4 \pm 0,1	2 \pm 0,3	2,7 \pm 0,3	0,9 \pm 0,1	0,3 \pm 0,02
	D1			0,8 \pm 0,2 * \downarrow	0,3 \pm 0,1 * \downarrow	0,2 \pm 0,1 * \downarrow	0,4 \pm 0,1 * \downarrow	0,5 \pm 0,2 NS
	D2			0,7 \pm 0,1 * \downarrow	0,4 \pm 0,2 * \downarrow	0,4 \pm 0,1 * \downarrow	0,3 \pm 0,04 * \downarrow	0,2 \pm 0,03 * \downarrow
	D3			1 \pm 0,01 * \downarrow	1,2 \pm 0,1 * \downarrow	0,5 \pm 0,1 * \downarrow	0,3 \pm 0,1 * \downarrow	0,2 \pm 0,01 * \downarrow
	S1			1,6 \pm 0,3 NS	1,7 \pm 0,3 NS	2,3 \pm 0,3 NS	0,4 \pm 0,03 * \downarrow	0,2 \pm 0,02 * \downarrow
	S2			1,3 \pm 0,2 NS	1,6 \pm 0,2 NS	2,1 \pm 0,2 NS	0,5 \pm 0,1 * \downarrow	0,3 \pm 0,1 NS
	O1			1,4 \pm 0,2 NS	1,6 \pm 0,4 NS	2,4 \pm 0,3 NS	0,5 \pm 0,05 * \downarrow	0,3 \pm 0,05 NS
	O2			1,5 \pm 0,2 NS	1,9 \pm 0,1 NS	2,9 \pm 0,3 NS	0,6 \pm 0,04 * \downarrow	0,3 \pm 0,01 NS

2005-2006

Saison	Organes		Stress	Racines fines	Grosses racines	Pivot	Tronc	Rameaux de l'année
Automne	T			2,9 \pm 0,3	6,3 \pm 0,5	8,9 \pm 1,5	3,2 \pm 0,2	2,5 \pm 0,1
	D1			0,2 \pm 0,1 ** \downarrow	0,4 \pm 0,3 ** \downarrow	0,3 \pm 0,2 ** \downarrow	1,4 \pm 0,2 ** \downarrow	1 \pm 0,2 ** \downarrow
	G			0,5 \pm 0,1 ** \downarrow	1,3 \pm 0,6 ** \downarrow	1,6 \pm 0,9 ** \downarrow	2 \pm 0,5 * \downarrow	1,5 \pm 0,3 * \downarrow
	N3			2,6 \pm 0,2 NS (/T)	6,3 \pm 0,8 NS (/T)	7,2 \pm 0,5 NS (/T)	2,9 \pm 0,1 NS (/T)	2,1 \pm 0,2 NS (/T)
	N1			3,1 \pm 0,4 NS (/N3)	6,3 \pm 0,5 NS (/N3)	8,2 \pm 0,7 NS (/N3)	3,3 \pm 0,4 NS (/N3)	2,4 \pm 0,4 NS (/N3)
	N2			2,6 \pm 0,4 NS (/N3)	6,9 \pm 0,3 NS (/N3)	9 \pm 0,3 * \uparrow (/N3)	3,2 \pm 0,5 NS (/N3)	2 \pm 0,1 NS (/N3)
Hiver	T			1,3 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	2,7 \pm 0,3	0,6 \pm 0,03	0,3 \pm 0,01
	D1			0,1 \pm 0,2 ** \downarrow	0,1 \pm 0,01 ** \downarrow	0,03 \pm 0,02 ** \downarrow	0,1 \pm 0,05 ** \downarrow	0,1 \pm 0,03 ** \downarrow
	G			0,4 \pm 0,1 ** \downarrow	0,5 \pm 0,2 * \downarrow	0,5 \pm 0,1 ** \downarrow	0,7 \pm 0,1 NS	0,6 \pm 0,1 NS
	N3			0,9 \pm 0,04 NS (/T)	1,4 \pm 0,2 * \downarrow (/T)	1,9 \pm 0,1 * \downarrow (/T)	0,4 \pm 0,1 NS (/T)	0,2 \pm 0,03 NS (/T)
	N1			1,2 \pm 0,1 * \uparrow (/N3)	2 \pm 0,2 NS (/N3)	2,5 \pm 0,2 * \uparrow (/N3)	0,4 \pm 0,1 NS (/N3)	0,2 \pm 0,02 NS (/N3)
	N2			1 \pm 0,1 NS (/N3)	1,7 \pm 0,2 NS (/N3)	2,5 \pm 0,4 NS (/N3)	0,5 \pm 0,1 NS (/N3)	0,2 \pm 0,1 NS (/N3)

l'automne et l'hiver.

3.A.7 Interconversion Amidon / Sucres Solubles

Entre l'automne et l'hiver, le ratio entre les teneurs en amidon et en sucres solubles (GFS : Glucose + Fructose + Saccharose) varie fortement. On parle classiquement d'interconversion (*cf.* 1.3.1.1. partie synthèse bibliographique). Nous avons donc étudié l'impact des différents traitements sur ce rapport $\frac{\text{Amidon}}{\text{GFS}}$ dans les différents organes de l'arbre.

A l'automne, les réserves glucidiques sont majoritairement sous forme d'amidon d'où un ratio supérieur à 1. Ceci est confirmé pour l'ensemble des traitements à l'exception du pivot des arbres D1₂₀₀₄, des organes souterrains des arbres D1₂₀₀₅, ainsi que des racines fines des arbres G. Généralement, le ratio est plus grand dans les organes souterrains que dans les organes aériens (*tableau III.A.14*).

Les traitements de sécheresse précoce (S1), d'ombrages précoce (O1) ou tardif (O2), d'absence de carence en azote (N3) et de carence azotée précoce (N1) n'ont aucun effet sur ce ratio (*tableau III.A.14*).

L'application de certains traitements modifie la valeur du ratio. Ainsi, les traitements D1₂₀₀₅ et G ont un effet négatif sur le ratio de tous les organes de l'arbre (racines fines : -93% et -81%, respectivement ; grosses racines : -94% et -79%, respectivement ; pivot : -96% et -83% ; tronc : -56% et -38%, respectivement ; rameaux de l'année : -59% et -40%, respectivement). Pour les traitements de défoliations de 2004, la diminution du ratio est significative dans les grosses racines (D1 : -46% ; D2 : -30% et D3 : -24%) et le pivot (D1 : -89% ; D2 : -60% et D3 : -38%). Pour le traitement S2, elle est significative uniquement dans le pivot (-26%). Pour le traitement N2, la valeur du ratio est augmentée significativement dans le pivot (+25%) (*tableau III.A.14*).

En hiver, les réserves glucidiques sont majoritairement sous forme d'amidon dans les organes souterrains d'où un ratio toujours supérieur à 1 et sous forme de sucres solubles dans les organes aériens d'où un ratio inférieur à 1. Même si la teneur en amidon reste élevée dans les organes souterrains, l'évolution automno-hivernale du ratio (une réduction) indique, tout de même, l'existence d'une hydrolyse de l'amidon en sucres solubles. De plus, en hiver, la valeur du ratio est plus grande dans les organes souterrains que dans les organes aériens. Ceci

est confirmé pour la majorité des traitements, sauf pour D1, D2 et G. Le traitement N2 est le seul conditionnement qui n'a aucun effet sur la valeur du ratio $\frac{\text{Amidon}}{\text{GFS}}$ (tableau III.A.14).

L'application de certains traitements modifie la valeur du ratio dans certains organes de l'arbre. Ainsi, les traitements de sécheresse tardive (S2), d'ombrages précoce (O1) et tardif (O2) diminuent significativement le ratio dans le tronc (-48%, -45% et -36%, respectivement). Pour le traitement S1, cette diminution a lieu seulement dans les organes aériens (tronc : -59% et rameaux d'un an : -37%). A l'inverse, le traitement annélation (G) réduit le ratio uniquement dans les organes souterrains (racines fines : -68%, grosses racines : -73% et pivot : -80%). En absence de carence azotée (N3), le ratio est diminué significativement dans les grosses racines (-20%) et le pivot (-29%). Le traitement de carence azotée précoce (N1) est le seul traitement qui augmente la valeur hivernale du ratio dans certains organes (racines fines : +35% et pivot : +30%) (tableau III.A.14).

Enfin, les traitements défoliations ont un effet de diminution du ratio sur tous les organes de l'arbre, sauf pour le traitement de défoliation précoce (D1) de 2004 où le ratio des rameaux d'un an n'est pas modifié significativement par rapport au témoin. Pour D1 et D2, l'impact négatif est plus fort sur les organes souterrains (racines fines : -44%_{D12004}, -91%_{D12005}, -53%_{D2} et -28%_{D3} ; grosses racines : -88%_{D12004}, -96%_{D12005}, -81%_{D2} et -41%_{D3} ; pivot : -92%_{D12004}, -99%_{D12005}, -84%_{D2} et -39%_{D3} ; tronc : -59%_{D12004}, -82%_{D12005}, -64%_{D2} et -62%_{D3} ; rameaux d'un an : -52%_{D12005}, -46%_{D2} et -49%_{D3}) (tableau III.A.14).

Discussions

Réactivité des arbres à leur environnement

Nos résultats montrent que les noyers ont la possibilité d'adapter différemment leur morphologie aux conditions environnementales. Ainsi, une contrainte hydrique sévère en début de saison estivale interrompt quasi immédiatement la croissance en diamètre et en longueur, alors que la réduction de surface foliaire ne se produit que tardivement, à la fin du traitement. Après réhydratation, l'arbre montre une reprise spectaculaire de la croissance en diamètre du tronc et de la croissance en longueur. A l'opposé, lorsque la sécheresse édaphique est appliquée plus tardivement (deuxième période estivale), l'arrêt de la croissance se produit

également, mais est accompagné d'une sévère réduction de la surface foliaire sans reprise de croissance après réhydratation. Ainsi, la première fonction affectée par la sécheresse est la croissance. L'arrêt de la croissance aérienne, par suite de l'installation d'une sécheresse, précéderait celui des racines (Riedacker, 1976 ; Bogeat-Tribullot *et al*, 2007). Cette adaptation de l'arbre est connue depuis longtemps. Dreyer et Mauget, en 1986, ont observé les mêmes réactions sur de jeunes noyers en conteneur de 3 ans lorsque la contrainte hydrique intervenait en tout début de saison de végétation ou très tardivement (en septembre, contrainte réalisée plus tard que S2). Ils situent l'arrêt de croissance pour une valeur de potentiel hydrique de base voisines de -0,8 MPa et parlent de différences de réactivité des arbres selon la période d'application du stress, en particulier des bourgeons dont les potentialités de croissance évoluent au cours du temps. Dreyer et Mauget (1986) observent également que la période d'application des contraintes hydriques jouerait sur l'état de dormance. On peut ainsi envisager que l'endurcissement au gel serait également modifié. Cette hypothèse sera vérifiée dans le sous-chapitre III.B suivant.

Parmi les conditionnements étudiés, nous avons pu observer une autre réponse adaptative des arbres à la défoliation continue pendant une période plus ou moins longue (D1 et D2). Dans ces conditions, la croissance en longueur est stimulée par la production de nœuds et d'entre-nœuds nouveaux au détriment de la croissance en diamètre (résultats 2005 : absence de la zone jeune du xylème). En effet, une défoliation peut entraîner une faible, voire une absence d'activité de la zone cambiale (Zimmermann et Brown, 1971). De plus, le plus souvent, les croissances en diamètre et en longueur sont en opposition ou déphasées dans le temps (Améglio, 1991). Dans le cas de la défoliation (D1 et D2), le bourgeon végétatif n'est jamais dormant (absence de paradormance). Les arbres produisent constamment de nouvelles feuilles et cette production ne s'arrête que très tardivement en fin de saison estivale de croissance, certainement limitée par le carbone disponible pour cette croissance. En septembre, nous avons montré que l'arbre ne répond pas à la défoliation (D3). On peut interpréter ce résultat par le fait que la dormance se soit installée à cette période dans le bourgeon. Les travaux de Fuchigami sur *Cornus sericea* L. montrent des résultats similaires et l'attribuent à l'acquisition de la maturité végétative de la plante (Fuchigami *et al*, 1977 ; Seibel et Fuchigami, 1978), stade de développement primordial pour préparer l'arbre à affronter la rudesse de l'hiver. A l'inverse, les défoliations de type D1 et D2 entretiennent une activité permanente du bourgeon terminal en fin d'été contrairement aux bourgeons terminaux des témoins qui sont inactifs à cette période et font ainsi craindre un endurcissement plus délicat l'hiver suivant. Cette hypothèse sera également vérifiée dans le sous-chapitre III.B.

Une autre réaction des arbres a été dévoilée par le traitement annélation. Ce traitement provoque l'interruption de la translocation des réserves produites par la partie aérienne vers les organes souterrains (Kramer et Kozlowski, 1979b), induit un enroulement des feuilles et une augmentation de la surface foliaire sans émission de nouvelles feuilles. L'enroulement permet également de réduire l'interception des radiations solaires en créant des zones d'ombre à la surface des feuilles (Hay *et al*, 2000 ; Moulia, 2000). Par ailleurs, contrairement à la partie du tronc localisée en dessous de l'anneau de décortication, celle située au dessus montrait une augmentation de la croissance en diamètre. L'augmentation de la surface des feuilles semble indiquer que le traitement ait été appliqué pendant la phase de croissance en surface des feuilles.

Le feuillage du noyer présente donc une plasticité phénologique importante en fonction des traitements appliqués. Nous venons d'en observer trois exemples particuliers (défoliation, annélation et sécheresse). Un quatrième a été relevé sur les conditionnements d'ombrages. Dans ce cas, la période plus ou moins précoce de l'application d'ombrage intervient dans la réponse phénotypique. Pour le traitement O1, les folioles augmentent de surface pour accroître l'interception du rayonnement sans que le nombre de feuilles n'augmente. Comme pour le traitement annélation, il semblerait que le traitement ait été appliqué pendant la phase de croissance en surface des feuilles. Plus tardivement, la réactivité de l'arbre est plus faible et on retrouve ici la variation du potentiel de croissance au cours de la saison estivale décrite précédemment.

Enfin, une carence prolongée en azote (N1) provoque une réduction du développement de l'arbre avec un palissement général du feuillage, alors qu'une carence en azote intervenant au cours de la saison estivale de croissance (N2) n'a pas d'effet sur la croissance et provoque uniquement des feuilles moins vertes que les témoins. Le traitement N2 a eu peu d'effet sur le développement des arbres car sa période d'application est probablement trop tardive pour avoir un effet sur la croissance des feuilles (*figure III.3(b)*), des rameaux (*figure III.4*) et du tronc (*figure III.1*). De plus, le nombre d'arbres suivis est vraisemblablement trop faible pour mettre en évidence des effets significatifs sur le développement.

Le noyer est donc un arbre qui présente une plasticité phénotypique importante, en particulier en jouant sur sa surface foliaire, soit pour réduire les pertes en eau en provoquant la chute volontaire de ces feuilles (sécheresse S1 et S2 ; Tyree *et al*, 1993), soit l'augmenter pour favoriser l'interception du rayonnement (O1, D1 et D2) ou modifier sa forme (G). De

plus, il est capable de réagir rapidement lorsque les conditions environnementales redeviennent favorables (S1, après réhydratation) et lorsque son état physiologique le lui permet. Enfin, le moment d'exécution du traitement est également important. En effet, si le traitement est appliqué en première partie de la saison estivale de croissance, l'arbre peut s'adapter (S1, O1). S'il a lieu en deuxième période, l'arbre montre des difficultés d'adaptation (O2). Il existe donc un potentiel de croissance ou d'adaptation aux contraintes environnementales au cours de la saison estivale de croissance (Frak *et al*, 2001). Certains auteurs mettent en avant le fait que les arbres intolérants aux variations des radiations solaires auraient une plasticité physiologique plus grande que des arbres tolérants à l'ombrage (Portsmouth et Niinemets, 2007). Cette plasticité permettrait aux arbres intolérants de modifier leur développement plus rapidement pour leur permettre de coloniser d'autres milieux plus favorables.

Impacts des conditions estivales de croissance sur la structure cellulaire, la biomasse et les glucides chez le noyer

Nos observations au microscope optique montrent que la structure cellulaire des rameaux d'un an est modifiée par l'application des traitements durant l'été. En effet, la présence des grains d'amidon est plus importante dans la zone du xylème de fin de saison estivale, zone qui est la plus jeune. Cette densité en amidon plus forte est probablement due au ralentissement de la croissance en fin de saison estivale (Frossard et Lacoite, 1988). Ainsi, si des variations de la teneur en amidon avaient été observées le long d'un rameau (Brunel, 2001), nous avons observé, dans cette étude, un gradient radial des teneurs en amidon sur un organe en formation, le rameau de l'année.

Peu d'études ont été réalisées sur les impacts des traitements estivaux sur la répartition de la biomasse dans les différents organes de l'arbre. Nos résultats montrent que, globalement, la biomasse totale (sans les feuilles) de l'arbre est réduite pour la presque totalité des traitements (D1, D2, O1, S2, G et N1) et l'on peut donc considérer que la photosynthèse est suffisamment affectée dans tous les traitements pour se répercuter sur la biomasse. La perturbation de l'accumulation des réserves glucidiques dans l'arbre est observée pour les mêmes traitements, à l'exception de N1. Par ailleurs, nous avons observé des pertes en glucides automno-hivernales pour la majorité des traitements, mais elles sont significatives seulement pour les traitements les plus forts (D1, D2, D3, O1 et S2). Ces pertes peuvent

correspondre à la respiration d'entretien de base. Le fait, de ne trouver une différence significative que pour les traitements les plus drastiques, peut s'expliquer par la faible puissance de notre test statistique non paramétrique (test Mann & Whitney) : le test indiquera que la perte de 34 g est significative pour de faible quantité (ex. *tableau III.A.10* : D2 : à l'automne : 52,1 g et en hiver : 17,8 g, différence significative), alors qu'une perte de 41 g sera non significative pour des quantités plus grandes par ce même test (ex. *tableau III.A.10* : N2 : à l'automne : 183,4 g et en hiver : 142,5 g, différence significative). Nos résultats indiquent aussi un effet contrasté des traitements sur la répartition de la biomasse structurale entre les différents organes de l'arbre. En effet, mis à part le traitement annélation où la modification de la répartition est volontaire entre les organes souterrains et aériens, les traitements de défoliations (D1 et D2) et d'ombrage précoce (O1) favorisent plutôt la répartition de la biomasse structurale vers les organes de la partie aérienne. Enfin, hormis les rameaux d'un an des arbres G, lorsqu'il y a un impact du traitement sur un organe, l'effet provoque toujours une réduction de la biomasse structurale. Pour les arbres traités par une sécheresse tardive (S2), on observe une biomasse structurale qui n'est pas significativement différente de celle des troncs des arbres témoins, malgré une diminution significative de la prise de diamètre des troncs S2 durant la période estivale de croissance (*figure III.15*). Ce résultat peut s'expliquer par une hauteur des troncs des arbres S2 plus élevée. La majorité des troncs des arbres S2 sont plus grand que les troncs des arbres témoins (en moyenne 7cm en plus pour les troncs des arbres S2 par rapport aux témoins).

Pour les teneurs en glucides, nous avons obtenu, en absence de contrainte, des résultats cohérents avec ceux obtenus par Kajji en 1992. Ainsi, les organes souterrains de ces jeunes noyers, en particulier le pivot, accumulent beaucoup plus de réserves glucidiques que les organes aériens. Cette accumulation préférentielle peut aussi s'expliquer par la présence dans les racines d'une proportion plus importante de cellules vivantes que pour la partie aérienne (Kandiah, 1979). De plus, cette particularité est propre aux jeunes arbres de moins de 20 ans (Bartelink, 1998 ; Grulke et Retzlaff, 2001). De fait, pour les arbres plus âgés, les quantités de réserves glucidiques sont plus importantes dans les branches et les grosses racines (Barbaroux *et al*, 2003).

Enfin, la dynamique saisonnière des glucides a été décrite chez de nombreuses espèces d'arbres (Priestley, 1962 ; Pakonen *et al*, 1991 ; Ashworth *et al*, 1993 ; Barbaroux et Bréda, 2002 ; Sivaci, 2006). Cette dynamique s'observe dans tous les organes de la plante. Nos résultats montrent que la conversion de l'amidon en sucres solubles en hiver est beaucoup

plus importante dans les organes aériens que souterrains. Tromp (1983) et Sauter (1988) expliquent ce résultat par l'influence des températures. En effet, l'évolution des sucres solubles est moins marquée dans les racines que dans les organes aériens en raison d'une température du sol moins variables et supérieure à celle de l'air (Tromp, 1983).

Peu d'études ont été réalisées sur les conséquences des traitements estivaux sur la mise en réserve des glucides et l'évolution de ceux-ci au cours du temps dans les différents organes de l'arbre. Nos résultats montrent tout d'abord, que les traitements de sécheresses précoce ou tardif, maintenus durant un mois, n'ont pas d'effet sur la mise en réserve des glucides dans les différents organes de l'arbre. Ainsi, une sécheresse estivale précoce n'altère pas la dynamique saisonnière des glucides dans les organes souterrains. Seul le tronc et les rameaux d'un an présentent un ratio amidon/sucres solubles diminué par rapport au témoin (plus de glucides sous forme de sucres solubles). Ainsi, malgré le fait que les seuils de cavitation du noyer aient été atteints ($\Psi_{\min} < -13$ bars et une forte chute de feuilles en particulier pour S2 : Tyree *et al*, 1993), l'impact sur la gestion du carbone est resté réduit. Ce résultat peut s'expliquer par une régulation précoce de la croissance sous contrainte hydrique et une reprise possible de cette croissance dans le cas d'une sécheresse précoce. Pour la sécheresse tardive, la croissance est presque terminée au moment où la contrainte se produit, ce qui expliquerait que ce traitement a peu d'impact sur la biomasse structurale des différents organes. Cette réaction se retrouve pour la teneur en GFSA. Cela confirme que la croissance et la mise en réserve se font simultanément (Lacointe, 2007).

Nos résultats montrent, ensuite, que les défoliations ont entraîné une diminution sévère des réserves glucidiques dans tous les compartiments de l'arbre. En diminuant la surface foliaire présente sur l'arbre à chaque instant, nous avons d'une part réduit la production des photosynthétats et, d'autre part, en lien avec la production continue de nouvelles feuilles, remobilisé et utilisé du carbone pour cette production. Wargo (1981a) a montré que la synthèse du nouveau matériel et l'entretien courant du métabolisme de l'arbre provoquent une remobilisation des réserves glucidiques en l'absence de feuille. Nos résultats s'inscrivent parfaitement dans ce schéma en montrant que l'effet des défoliations sur les arbres dépend de la durée de celles-ci. En effet, plus la défoliation est précoce, moins il y a de réserve dans les arbres. Une défoliation très tardive (D3) a provoqué dans les grosses racines et le pivot une remobilisation anticipée des réserves amylacées (diminution du ratio amidon/sucres solubles). Des défoliations précoce et tardive entraînent une consommation

accrue des glucides dans la plante. Cette réduction des réserves est préjudiciable pour la reprise de croissance des arbres le printemps suivant. En effet, en 2006, nous avons suivi le débourrement des arbres D1₂₀₀₅ l'année suivante. Aucun de ces arbres n'a survécu (données non présentées).

Nos résultats montrent également que les traitements d'ombrages ont eu principalement un effet de diminution sur certains organes souterrains. Ainsi, la biomasse structurale et les réserves glucidiques du pivot des arbres O1 sont défavorisées par rapport aux autres organes. Pour le traitement O2, si la biomasse structurale n'est pas touchée (croissance terminée), le pivot et les racines fines montrent une diminution de teneur en glucides que l'on peut penser directement liée à la photosynthèse de l'arbre (Priestley, 1962). De plus, il est connu dans la littérature qu'une diminution de l'éclairement provoque une réduction préférentielle de la croissance des racines chez *Populus tremula* (Eliasson, 1968) ou *Acer saccharum* (Webb, 1976). Nos résultats montrent également que l'interconversion amidon/sucres solubles n'est pas perturbée par les traitements d'ombrage.

Le traitement annélation augmente l'accumulation des glucides dans les organes au dessus de celui-ci (Kramer et Kozlowski, 1960). Mais, cette augmentation n'est pas équivalente à celle qu'on pourrait s'attendre au niveau des parties pérennes de l'arbre. Si on considère le compartiment 'feuille', la différence de biomasse avec le témoin n'est pas plus significative et c'est donc dans les feuilles qu'une partie du carbone produit doit être restée stockée.

Ainsi, pour conclure et résumer les principaux résultats de cette partie :

L'analyse de la croissance du noyer au cours de son développement aérien végétatif a permis d'apprécier la plasticité phénotypique de sa croissance et son comportement adaptatif vis-à-vis de différentes contraintes abiotiques. Le noyer est capable de répondre à son environnement en faisant varier sa surface foliaire, sa croissance en longueur et en diamètre, ainsi qu'*in fine* sa biomasse, mais son adaptation varie fortement au cours de la saison estivale et devient très faible après la mi-juillet. La répartition de la biomasse structurale peut être modifiée entre les différents compartiments de l'arbre selon les traitements, mais le développement des organes aériens semble prioritaire par rapport aux organes souterrains.

III - B : Impact des conditions estivales de croissance sur la résistance au gel des différents organes de l'arbre

Introduction

Les événements de gel peuvent provoquer un stress ou causer des blessures sur les plantes non acclimatées à les subir (Weiser, 1970 ; Pearce, 2001). L'acclimatation au gel des plantes, le plus souvent appelée endurcissement, est un processus actif résultant de l'expression de nombreuses adaptations physiologiques et métaboliques en réponse aux basses températures (Levitt, 1980). Chez de nombreuses espèces, l'endurcissement au gel est contrôlé par l'environnement (Weiser, 1970 ; Sakai et Larcher, 1987), en particulier par la photopériode lors de la première phase de ce processus, après l'arrêt de la croissance végétative des arbres. Par la suite, les basses températures, en particulier, celles inférieures à 5°C, permettent l'acquisition d'un haut niveau de résistance au gel (Dereuddre et Gazeau, 1992). Lors de cet acquisition, des changements métaboliques majeurs ont été déjà bien décrits dans la bibliographie de ce manuscrit, notamment des modifications des teneurs en sucres solubles (Dionne *et al*, 2001). Ainsi, le plus souvent, une évolution conjointe des teneurs en sucres solubles qui augmentent et de l'endurcissement au gel du végétal qui s'accroît à partir de l'automne est observée (Levitt, 1980). Des études récentes ont mis en évidence ce type de relation entre le niveau de résistance au gel et la teneur en sucres solubles pour différentes espèces de chênes et localisations aux limites des aires de répartition de ces espèces (Morin *et al*, 2007). Enfin, nous avons vu dans le chapitre II précédent que l'état glucidique était une des variables d'entrée majeures du modèle, décrivant l'état d'endurcissement au gel du noyer.

Les sucres solubles semblent donc jouer un rôle important dans la protection de la cellule contre le gel. L'objectif de ce chapitre est donc de vérifier ce point en modifiant le bilan de carbone des arbres en période estivale, par l'application de stress variés, et en suivant les risques de dommages liés au gel sur les arbres au cours de l'hiver. Nous examinerons ensuite si cette relation étroite entre la teneur en sucres solubles et la résistance au gel est conservée dans les différents organes de l'arbre.

Pour répondre à cet objectif, à l'automne et en hiver, nous avons évalué la teneur en glucides (sucres solubles (GFS) et amidon (A)) et leur résistance au gel (LT₅₀) des principaux organes identifiés précédemment.

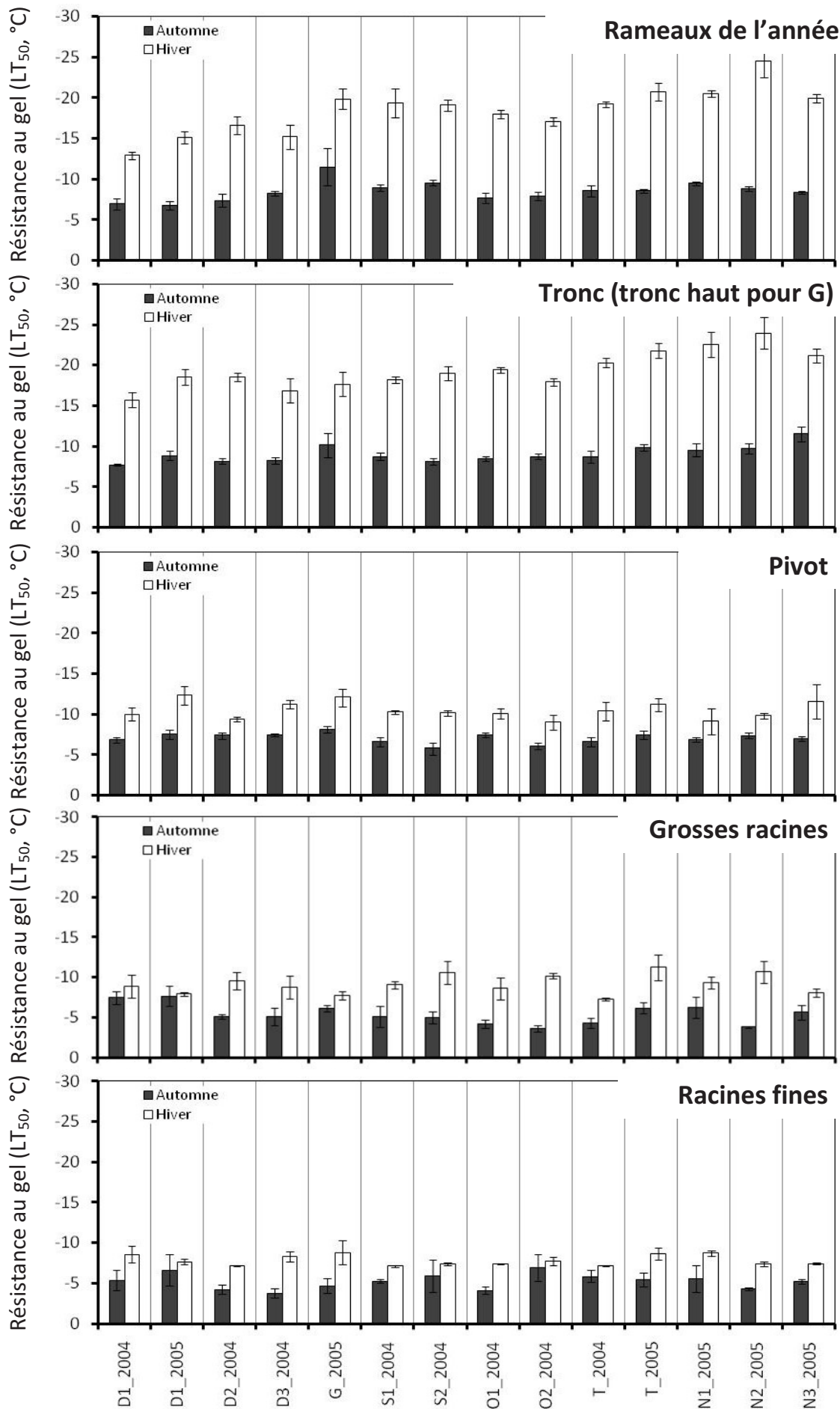


Figure III.B.1 : Impact des différents traitements estivaux sur la résistance au gel à l'automne et en hiver des différents organes de jeunes noyers en conteneur. (D1 : Défoliation de type 1, D2 : Défoliation de type 2, D3 : Défoliation de type 3, O1 : Ombrage de type 1, O2 : Ombrage de type 2, S1 : Sécheresse de type 1, S2 : Sécheresse de type 2, G : Annélation, T : Témoin, N1 : Nutrition de type 1, N2 : Nutrition de type 2, N3 : Nutrition de type 3). Moyenne, \pm SE, n=3 en 2004 et n=5 en 2005.

Avant d'exposer et de discuter les résultats de ce chapitre, nous allons très brièvement rappeler le matériel et les méthodes auxquels nous avons eu recours pour répondre à cet objectif.

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre est décrit dans le paragraphe 1.1 (jeunes noyers en conteneur) (page 81). Les traitements appliqués sont décrits dans le paragraphe 1.2.1 (page 87). Les méthodes dont nous nous sommes servies sont présentées dans le premier chapitre de ce manuscrit de thèse (résistance au gel (LT_{50})), 2.5 (dosages glucidiques) (page 104), 2.8 (microcalorimétrie) (page 116) et 3.1 (analyse statistique) (page 117).

Résultats

Avant d'étudier les conséquences des traitements sur la prise en glace dans le milieu extracellulaire des racines fines, du pivot et des rameaux de l'année, nous montrerons que les conditionnements estivaux provoquent des modifications de résistance au gel variables selon les organes. Ensuite, nous aborderons les résultats obtenus sur la relation entre les teneurs en glucides et la résistance au gel des différents organes de l'arbre.

3.B.1 Variation de la résistance au gel suite à l'application des différents traitements estivaux

Les variations de la résistance au gel des différents organes de jeunes noyers en conteneur soumis à différents conditionnements estivaux sont présentées sur la *figure III.B.1*.

La résistance au gel automnale (LT_{50}) des racines fines est comprise entre $-6,9^{\circ}\text{C}$ (O2-2004) et $-3,8^{\circ}\text{C}$ (D3-2004). La différence de résistance au gel entre les racines fines des arbres conditionnés et celles des arbres témoins (T et N3) n'est pas significative ($T_{2004} = -5,9 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, $T_{2005} = -5,5 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$, $N3 = -6,7 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $P > 0,05$). Seul le traitement N2 montre une diminution significative de la résistance au gel ($N2 = -4,3 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, $P = 0,05$) par rapport aux arbres N3.

La résistance au gel hivernale des racines fines est comprise entre $-8,8^{\circ}\text{C}$ (G-2005) et $-7,1^{\circ}\text{C}$ (D2-2004). La résistance au gel des racines fines n'est pas significativement différente

des arbres témoins ($T_{2004} = -7,2^{\circ}\text{C} (\pm 0,1)$, $T_{2005} = -8,6^{\circ}\text{C} (\pm 0,7)$, $P>0,127$). Seul le traitement N1 montre une augmentation significative de la résistance au gel de ces fines racines ($N1 = -8,8^{\circ}\text{C} (\pm 0,3)$, $N3 = -7,5^{\circ}\text{C} (\pm 0,1)$, $P<0,05$).

L'endurcissement des racines fines automno-hivernale est de $-2,6 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$. La différence de résistance au gel entre l'automne et l'hiver des racines fines des arbres D1₂₀₀₄ et 2005, O2, S2, T₂₀₀₄, G, N1 n'est pas significative ($P>0,086$), contrairement aux racines fines des arbres D2, D3, O1, S1, T₂₀₀₅, N2 et N3 ($P<0,05$).

En résumé (cf. tableau suivant), pour la presque totalité des conditionnements étudiés, la résistance au gel des racines fines des jeunes noyers n'est pas modifiée à l'automne, et en hiver, à l'exception d'un effet négatif pour le gel automnale des racines fines des arbres N2 et d'un effet positif pour le gel hivernale des arbres N1. On note également que les traitements D2, D3, O1, S1, T₂₀₀₅, N2 et N3 réduisent la capacité d'endurcissement des fines racines.

LT ₅₀	Effet négatif	Sans effet	Effet positif
Automne	N2	D1, G, N1, D2, D3, O1, O2, S1 et S2	aucun
Hiver	aucun	N2, D1, D2, D3, G, O1, O2, S1 et S2	N1

Lorsqu'il y a un effet, les stress sont classés du plus négatif au moins négatif et du plus positif au moins positif.

La résistance au gel automnale (LT₅₀) des grosses racines est comprise entre $-7,7^{\circ}\text{C}$ (D1-2004) et $-3,7^{\circ}\text{C}$ (O2-2004). Pour la majorité des traitements, la résistance au gel des grosses racines n'est pas significativement différente des arbres témoins (T et N3) ($T_{2004} = -4,3 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$, $T_{2005} = -6,2 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, $N3 = -5,7 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, $P>0,275$). Le traitement D1₂₀₀₄ montre une augmentation significative de la résistance au gel automnale par rapport aux arbres T₂₀₀₄ ($D1_{2004} = -7,5 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$, $T_{2004} = -4,3 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$, $P<0,05$). Ce résultat n'a pas été retrouvé en 2005, où la différence n'est pas significative par rapport aux témoins. Le traitement N2 diminue de manière significative la résistance au gel automnale par rapport aux arbres N3 ($N2 = -3,8 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ et $N3 = -5,7 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$).

La résistance au gel hivernale (LT₅₀) des grosses racines est comprise entre $-11,2^{\circ}\text{C}$ (T-2005) et $-7,3^{\circ}\text{C}$ (T-2004). Les traitements D1, D2, D3, O1, G, N1 et N2 n'ont pas d'effet

significatif sur la résistance au gel ($T_{2004} = -7,3 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, $T_{2005} = -11,3 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$, $N3 = -8,1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $P>0,127$). Les traitements O2, S1 et S2 augmentent la résistance au gel des grosses racines (O2 = $-10,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, S1 = $-9,07 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ et S2 = $-10,6 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, $P<0,05$).

L'endurcissement au gel des grosses racines entre l'automne et l'hiver est de $-3,7 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. La différence de résistance au gel entre l'automne et l'hiver n'est pas significative pour les grosses racines des arbres D1_{2004 et 2005}, D3 et N1, contrairement aux arbres D2, O1, O2, S1, S2, T_{2004 et 2005}, G, N2, N3.

En résumé (*cf.* tableau suivant), seuls les traitements D1₂₀₀₄ et N2 modifie la résistance au gel automnale des grosses racines : D1₂₀₀₄ semble avoir un effet positif et N2 un effet négatif. La résistance au gel hivernale des grosses racines est influencée positivement par les traitements O2, S1 et S2. Les autres conditionnements n'ont pas d'effet sur le niveau de résistance au gel hivernale.

On peut également noter que certains traitements (D1, D3 et N1) diminuent les capacités d'endurcissement des grosses racines.

LT ₅₀	Effet négatif	Sans effet	Effet positif
Automne	N2	D1 ₂₀₀₅ , D2, D3, O1, O2, S1, S2, G, N1 et N2	D1 ₂₀₀₄
Hiver	aucun	D1, G, N1, N2, D2, D3 et O1	S2, O2 et S1

Lorsqu'il y a un effet, les stress sont classés du plus négatif au moins négatif et du plus positif au moins positif.

La résistance au gel automnale (LT₅₀) du pivot est comprise entre $-5,8^{\circ}\text{C}$ (S2-2004) et $-8,1^{\circ}\text{C}$ (G-2005). Suite à l'application des différents traitements, la résistance au gel des pivots n'est pas significativement différente des pivots témoins (T et N3) ($T_{2004} = -6,6^{\circ}\text{C} (\pm 0,6)$, $T_{2005} = -7,4^{\circ}\text{C} (\pm 0,5)$, $N3 = -7^{\circ}\text{C} (\pm 0,3)$, $P>0,127$).

La résistance au gel hivernale (LT₅₀) est comprise entre -9°C (O2-2004) et $-12,3^{\circ}\text{C}$ (D1-2005). La résistance au gel hivernale des pivots des arbres stressés n'est pas significativement différente de celle des arbres témoins (T et N3) ($T_{2004} = -10,4^{\circ}\text{C} (\pm 1,2)$, $T_{2005} = -11,2^{\circ}\text{C} (\pm 0,8)$, $N3 = -11,6^{\circ}\text{C} (\pm 2,1)$, $P>0,175$).

L'endurcissement au gel des pivots entre l'automne et l'hiver est de $-3,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. La différence de résistance au gel entre l'automne et l'hiver du pivot des arbres est significative pour tous les types d'arbres (stressés ou non) ($P < 0,05$).

En résumé (cf. tableau suivant), il n'y a donc pas d'effet significatif des différents traitements sur la résistance au gel à l'automne, mais également en hiver, des pivots.

LT₅₀	<i>Effet négatif</i>	<i>Sans effet</i>	<i>Effet positif</i>
<i>Automne</i>	aucun	D1, D2, D3, G, O1, O2, N1, N2, S1 et S2	aucun
<i>Hiver</i>	aucun	D1, D2, D3, G, O1, O2, N1, N2, S1 et S2	aucun

Lorsqu'il y a un effet, les stress sont classés du plus négatif au moins négatif et du plus positif au moins positif.

La résistance au gel automnale du tronc est comprise entre $-11,5^{\circ}\text{C}$ (N3-2005) et $-7,7^{\circ}\text{C}$ (D1-2004). Suite à l'application des différents traitements, la résistance au gel du tronc n'est pas significativement différente de celle des arbres témoins (T et N3) ($T_{2004} = 8,7 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, $T_{2005} = -9,8 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ et $N3 = -11,5 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, $P > 0,117$).

La résistance au gel hivernale du tronc est comprise entre $-15,7^{\circ}\text{C}$ (D1-2004) et -24°C (N2-2005). La résistance au gel des troncs des arbres N1, N2, D2, O1 et S2 n'est pas significativement différente de celle des arbres témoins (N3 et T) ($N3 = -21,2 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, $T_{2004} = -20,3 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ et $T_{2005} = -21,8 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, $P > 0,127$). Les traitements D1, D3, O2, S1 et G diminuent de manière significative la résistance au gel du tronc des arbres ($D1_{2004} = -15,7 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, $D1_{2005} = -18,6 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $O2 = -18 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $G_{\text{haut}} = -17,7 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, $D3 = -16,90 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, $S1 = -18,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, $P < 0,05$).

L'endurcissement du tronc entre l'automne et l'hiver est en moyenne de $-10,4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Cet endurcissement du tronc est significatif ($P < 0,05$) pour tous les traitements.

En résumé (cf. tableau suivant), la résistance au gel automnale du tronc n'est donc pas influencée par les différents traitements étudiés. Après l'application des traitements, nous obtenons une gamme de résistance au gel seulement en hiver. Certains conditionnements (N1, N2, D2, O1 et S2) n'ont pas d'effet sur la résistance au gel du tronc des arbres ; d'autres

conditionnements ont un effet plus ou moins négatif. Le traitement D1 est celui qui réduit le plus la résistance au gel du tronc.

LT₅₀	<i>Effet négatif</i>	<i>Sans effet</i>	<i>Effet positif</i>
<i>Automne</i>	aucun	D1, G, N1, N2, D2, D3, O1, O2, S1 et S2	aucun
<i>Hiver</i>	D1, D3, G, O2, S1	D2, O1, S2, N1 et N2	aucun

Lorsqu'il y a un effet, les stress sont classés du plus négatif au moins négatif et du plus positif au moins positif.

La résistance au gel automnale des rameaux de l'année est comprise entre -11,5°C (G-2005) et -6,8°C (D1-2005). Les traitements de 2004 (D1, D2, D3, O1, O2, S1 et S2) n'ont pas d'effet significatif sur la résistance au gel automnale de cet organe ($P > 0,127$). En 2005, le traitement D1 a provoqué une diminution significative de la résistance au gel ($T_{2005} = -8,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, $D1_{2005} = -6,8 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $P = 0,009$). Le traitement N1 induit une augmentation significative de la résistance au gel ($N1 = -9,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, $N3 = -8,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, $P = 0,05$). Le traitement G ne provoque pas d'effet significatif ($G = -11,5 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$, $T_{2005} = -8,6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, $P = 0,101$).

La résistance au gel hivernale des rameaux d'un an est comprise entre -24,5°C (N2-2005) et -12,9°C (D1-2004). La résistance au gel des rameaux de l'année des arbres S1 et S2 n'est pas significativement différente de celle des arbres T ($P > 0,513$). Le traitement D1 provoque la plus grande diminution de résistance ($D1_{2004} = -12,9 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $T_{2004} = -19,2 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $D1_{2005} = -15,1 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$, $T_{2005} = -20,7 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, $P < 0,05$). Les traitements G et N1 n'ont pas une résistance au gel significativement différente de celle des arbres témoins (T et N3) ($P > 0,347$). Le traitement N2 induit une augmentation significative de la résistance au gel ($N2 = -24,5 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $N3 = -20 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, $P = 0,05$). Les traitements D2, D3, O1 et O2 réduisent de manière significative la valeur du LT₅₀ des rameaux de l'année ($T_{2004} = -19,2 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $D2 = -16,6 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, $D3 = -15,2 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, $O1 = -18 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ et $O2 = -17,1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $P < 0,05$).

L'endurcissement des rameaux de l'année entre l'automne et l'hiver est de $-10 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$. Cet endurcissement est significatif ($P < 0,05$) pour tous les traitements.

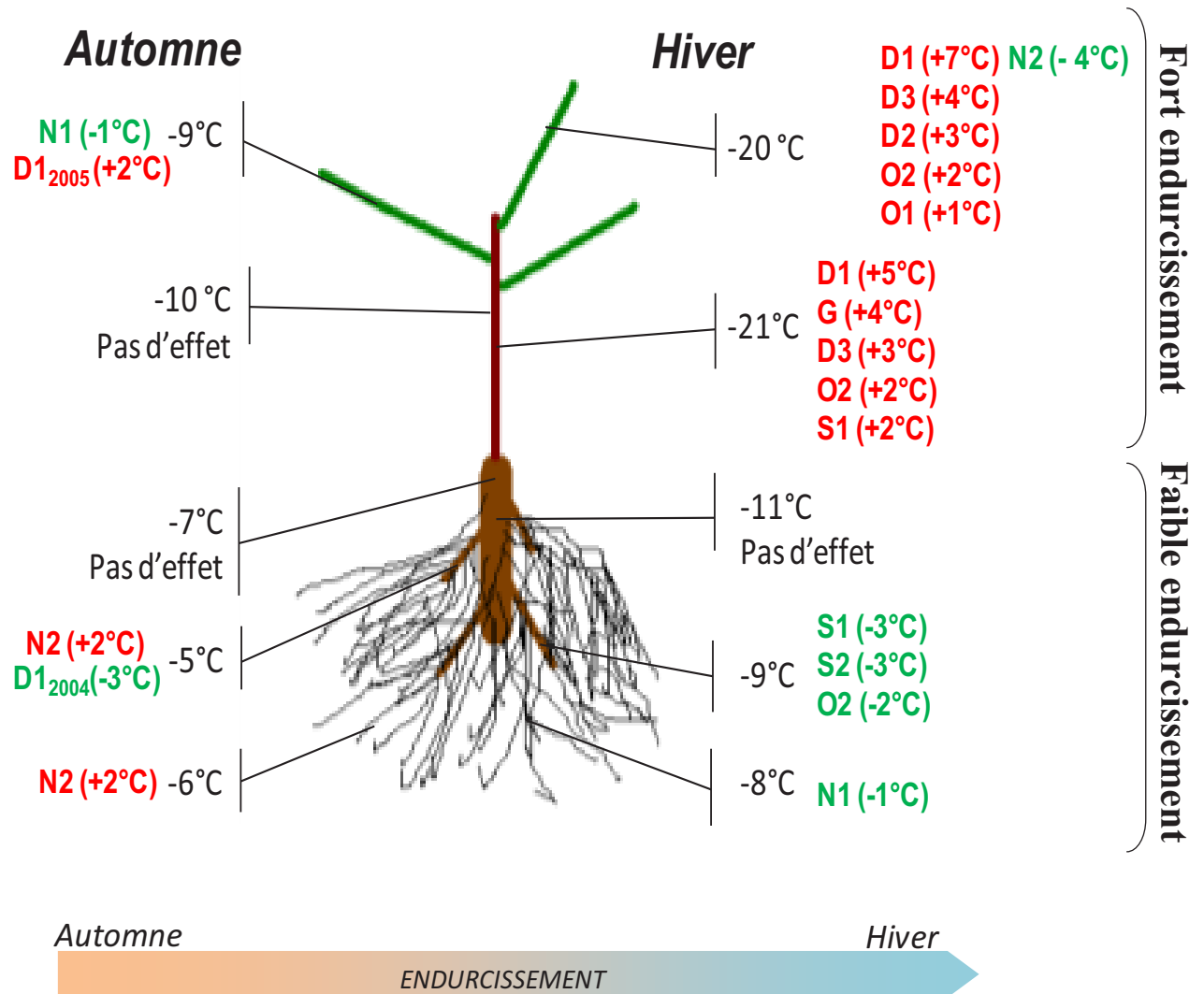
En résumé (cf. tableau suivant), la résistance au gel automnale des rameaux d'un an est faiblement influencée par les traitements estivaux. Seuls les traitements D1₂₀₀₅ et N1 ont

provoqué une modification de la résistance au gel d'automne : le conditionnement D1₂₀₀₅ semble avoir un effet négatif, le traitement N1 un effet positif. Nous obtenons donc une gamme de résistance au gel suite à l'application des différents conditionnements. L'influence des traitements estivaux sur la résistance hivernale des rameaux de l'année est variable. Le traitement D1 est celui qui diminue le plus la résistance au gel de ces organes. Le traitement N2 est le seul conditionnement qui améliore la résistance au gel des rameaux de l'année.

LT₅₀	<i>Effet négatif</i>	<i>Sans effet</i>	<i>Effet positif</i>
<i>Automne</i>	D1 ₂₀₀₅	G, N2, D1 ₂₀₀₄ , D2, D3, O1, O2, S1 et S2	N1
<i>Hiver</i>	D1, D3, D2, O2 et O1	G, N1, S1 et S2	N2

Lorsqu'il y a un effet, les stress sont classés du plus négatif au moins négatif et du plus positif au moins positif.

**Synthèse des effets des différents conditionnements estivaux sur la résistance au gel
des organes d'un jeune noyer en conteneur**



3.B.2 Formation de la glace : température de nucléation

Nous avons cherché, ici, à déterminer si la température de formation de la glace pouvait varier selon les traitements et pour quelques organes.

Le *tableau III.B.2* présente les températures auxquelles interviennent les exothermes primaires hivernaux dans les racines fines, le pivot et les rameaux de l'année de noyers ayant subis différents traitements durant l'été 2005.

<i>Organes</i>	<i>D1</i>	<i>G</i>	<i>T</i>	<i>N1</i>	<i>N2</i>	<i>N3</i>
Racines fines	-6,7 ^{NS, a} ± 2	-5,2 ^{NS, a} ± 0,5	-5,7 ^a ± 0,6	-5,4 ^{NS, a} ± 0,9	-6,1 ^{NS, a} ± 0,2	-6,3 ^a ± 0,2
Pivot	-6,7 ^{NS, a} ± 0,2	-6,7 ^{NS, b} ± 0,1	-7,4 ^a ± 0,7	-8,8 ^{NS, b} ± 0,7	-10,1 ^{NS, c} ± 1,5	-7,5 ^b ± 0,3
Rameaux de l'année	-6,9 ^{NS, a} ± 0,1	-14,4 ^{*. c} ± 2	-6,7 ^a ± 0,4	-8,2 ^{** b} ± 0,3	-7,3 ^{NS, b} ± 0,1	-7,2 ^b ± 0,2

Tableau III.B.1 : Température de nucléation hivernale des racines fines, du pivot et des rameaux de l'année de jeunes noyers en conteneur ayant subis différents traitements l'été 2005 (Traitements : D1 : Défoliation de type 1 ; G : Annélation ; N1 : Nutrition de type 1 ; N2 : Nutrition de type 2 ; N3 : Nutrition de type 3 ; T : Témoin ; NS : différence non significative avec T ou D3 ; * : différence significative avec T (P<0,05) ; ** : différence significative avec N3 (P<0,05), les lettres différentes représentent les différences significatives entre les organes d'un même traitement (P<0,05)).

Dans les racines fines, l'exotherme primaire intervient entre -5°C et -7°C (*tableau III.B.1*). Les températures de prise en glace des racines fines des arbres D1 et G ne sont pas significativement différentes de celle des arbres T (D1 : P = 0,827 ; G : P = 0,724). Celles des arbres N1 et N2 ne sont pas significativement différentes de celle des arbres N3 (N1 : P = 0,513 ; N2 : P = 0,513).

Dans le pivot, l'exotherme primaire intervient entre -6,5°C et -10,5°C. Les températures de nucléation du pivot des arbres D1 et G ne sont pas significativement différentes de celle des arbres T (D1 : P = 0,513 ; G : P = 0,297). Celles des arbres N1 et N2 ne sont pas significativement différentes de celle des arbres N3 (N1 : P = 0,127 ; N2 : P = 0,127).

Dans les rameaux de l'année, l'exotherme primaire intervient entre -6,5°C et -14,5°C (*tableau III.B.1*). La température de formation de la glace des rameaux des arbres D1 et N2 n'est pas significativement différente de celle des arbres T et N3, respectivement (D1/T : P = 0,827 ; N2/N3 : P = 0,827). Par contre, on observe une diminution significative de la

température à laquelle intervient l'exotherme primaire pour les traitements G et N1 (G/T : P = 0,025 ; N1/N3 : P = 0,05).

Pour les arbres témoins, la température de nucléation ne varie pas significativement entre les différents organes étudiés.

Pour le traitement D1, la température de formation de la glace n'évolue pas significativement entre les organes.

Pour le traitement G, la température de nucléation est significativement différente entre les organes. Les racines fines présentent une température de nucléation plus élevée que les grosses racines. Les rameaux de l'année, quand à eux, ont la température de formation de la glace la plus basse.

Pour le traitement N1, le pivot et les rameaux de l'année n'ont pas une température de nucléation significativement différente. Les racines fines montrent une température de nucléation significativement plus élevée que celle du pivot et des rameaux d'un an.

Pour le traitement N2, la température de nucléation est significativement différente entre les organes. Les racines fines présentent une température de nucléation plus élevée que les rameaux de l'année. Le pivot a la température de formation de la glace la plus basse.

Le *tableau III.B.2* montre la résistance au gel (LT₅₀) hivernale des différents organes.

<i>Organes</i>	<i>D1</i>	<i>G</i>	<i>T</i>	<i>N1</i>	<i>N2</i>	<i>N3</i>
Racines fines	-7,6 ± 0,3 ^{NS}	-8,8 ± 1,5 *	-8,6 ± 0,7 *	-8,7 ± 0,3 *	-7,4 ± 0,3 *	-7,5 ± 0,1 *
Pivot	-12,3 ± 1,1 *	-12,1 ± 1,1 **	-11,2 ± 0,8 *	-9,1 ± 1,6 ^{NS}	-9,8 ± 0,3 ^{NS}	-11,6 ± 2,1 ^{NS}
Rameaux de l'année	-15,1 ± 0,8 *	-19,9 ± 1,3 *	-20,7 ± 1,1 *	-20,5 ± 0,4 *	-24,5 ± 2 *	-20 ± 0,5 *

Tableau III.B.2 : Résistance au gel hivernale des racines fines, du pivot et des rameaux de l'année de jeunes noyers en conteneur ayant subis différents traitements estivaux durant l'été 2005 (Traitements : D1 : Défoliation de type 1 ; G : Annélation ; N1 : Nutrition de type 1 ; N2 : Nutrition de type 2 ; N3 : Nutrition de type 3 ; T : Témoin ; Les résultats de l'analyse statistique entre le LT₅₀ et la température de nucléation sont indiqués : NS : différence non significative; * : différence significative et P<0,05 ; ** : différence significative et P<0,01.

La résistance au gel (LT_{50}) des racines fines de 2005 varie entre -9°C et -7°C . Pour la majorité des traitements, le LT_{50} et l'exotherme primaire des racines fines sont significativement différents ($P < 0,05$), sauf pour le traitement D1 ($P = 0,479$).

La résistance au gel (LT_{50}) des pivots varie entre -12°C et -9°C . Pour les traitements D1, G et T, le LT_{50} et l'exotherme primaire sont significativement différents ($P < 0,053$). Pour les traitements N1, N2 et N3, ils ne sont pas significativement différents ($P > 0,127$).

La résistance au gel (LT_{50}) des rameaux de l'année varie entre -15°C et $-24,5^{\circ}\text{C}$ (tableau III.B.2). Pour l'ensemble des traitements du *tableau III.B.2*, le LT_{50} et l'exotherme primaire sont significativement différents ($P < 0,05$).

3.B.3 Relation entre la teneur en glucides et la résistance au gel des différents organes de l'arbre

Dans ce paragraphe, nous avons étudié pour tous les organes de l'arbre, les relations entre la résistance au gel et les teneurs en glucides (principalement les sucres solubles et, secondairement, l'amidon) précédemment observées dans le chapitre II de ce manuscrit pour des rameaux de l'année d'arbres adultes en verger. Le *tableau III.B.3* présente les coefficients de détermination (r^2) et de corrélation de Pearson des régressions linéaires réalisées entre la résistance au gel (LT_{50}) et la teneur en sucres solubles ou en amidon pour les différents organes de l'arbre.

La *figure III.B.2* présente les régressions linéaires entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles ou en amidon des racines fines de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel des racines fines est négativement et faiblement corrélée avec la teneur en sucres solubles des racines fines. La corrélation est significative mais seulement 16% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en sucres solubles ($LT_{50} = f([GFS])$) ($r^2 = 0,162$, coefficient de Pearson : $-0,404$, $P = 0,033$). Donc, les variations de la teneur en sucres solubles ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel des racines fines.

La résistance au gel des racines fines est positivement et passablement corrélée avec la teneur en amidon des racines fines. La corrélation est significative mais seulement 29% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en amidon ($LT_{50} = f([Amidon])$) ($r^2 = 0,293$, coefficient de Pearson : $+0,542$, $P = 0,003$). Donc, les

variations de la teneur en amidon ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel dans les racines fines.

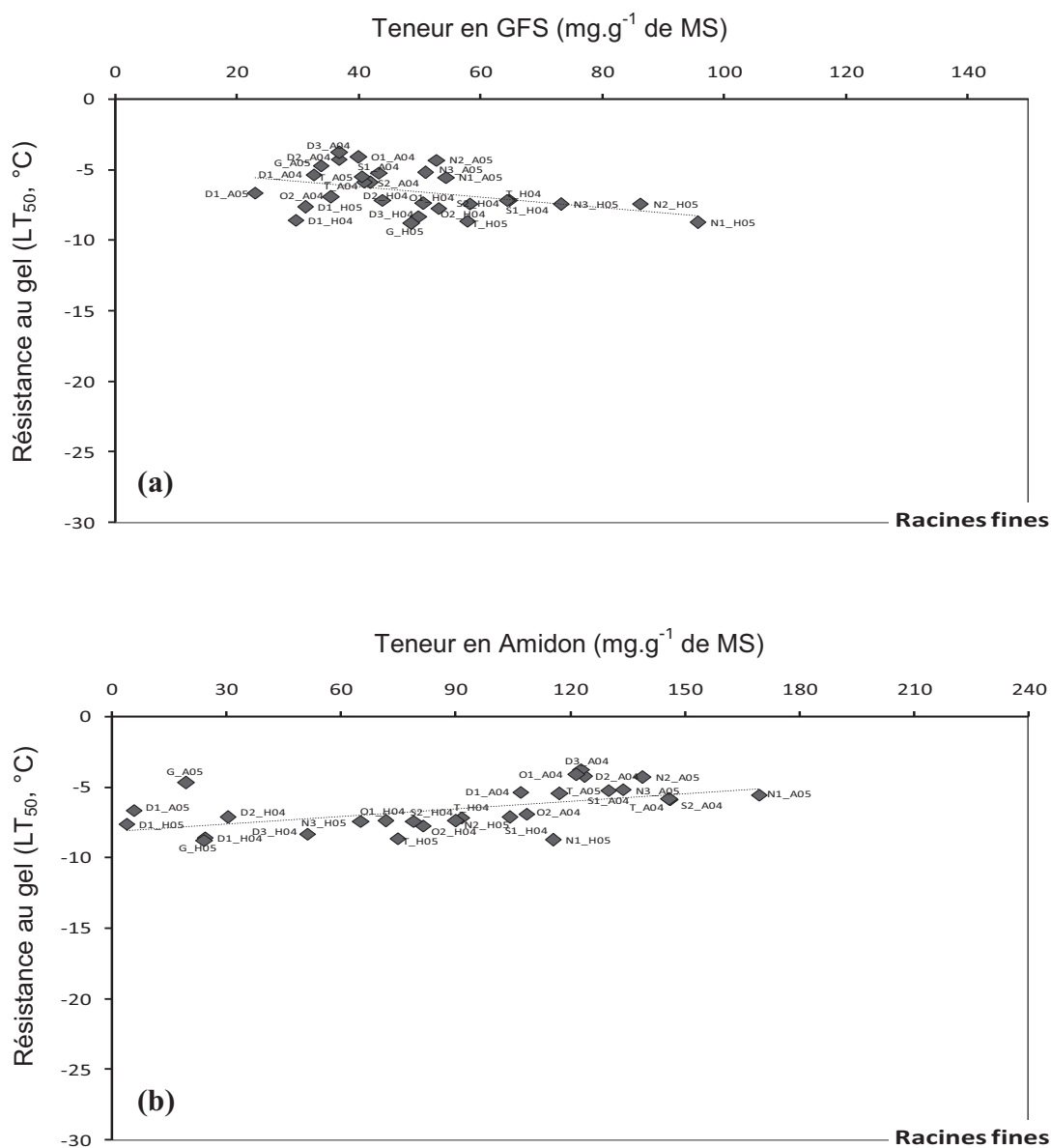


Figure III.B.2 : Régression linéaire entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles (a) (GFS) ou en amidon (b) des racines fines de jeunes noyers en conteneur.

La *figure III.B.3* présente les régressions linéaires entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles ou en amidon des grosses racines de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel des grosses racines est négativement et passablement corrélée avec la teneur en sucres solubles des grosses racines. La corrélation est significative mais seulement 40% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en sucres solubles ($LT_{50} = f([GFS])$) ($r^2 = 0,399$, coefficient de Pearson : -0,632, $P < 0,004$). Donc, les variations de la teneur en sucres solubles ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel des grosses racines.

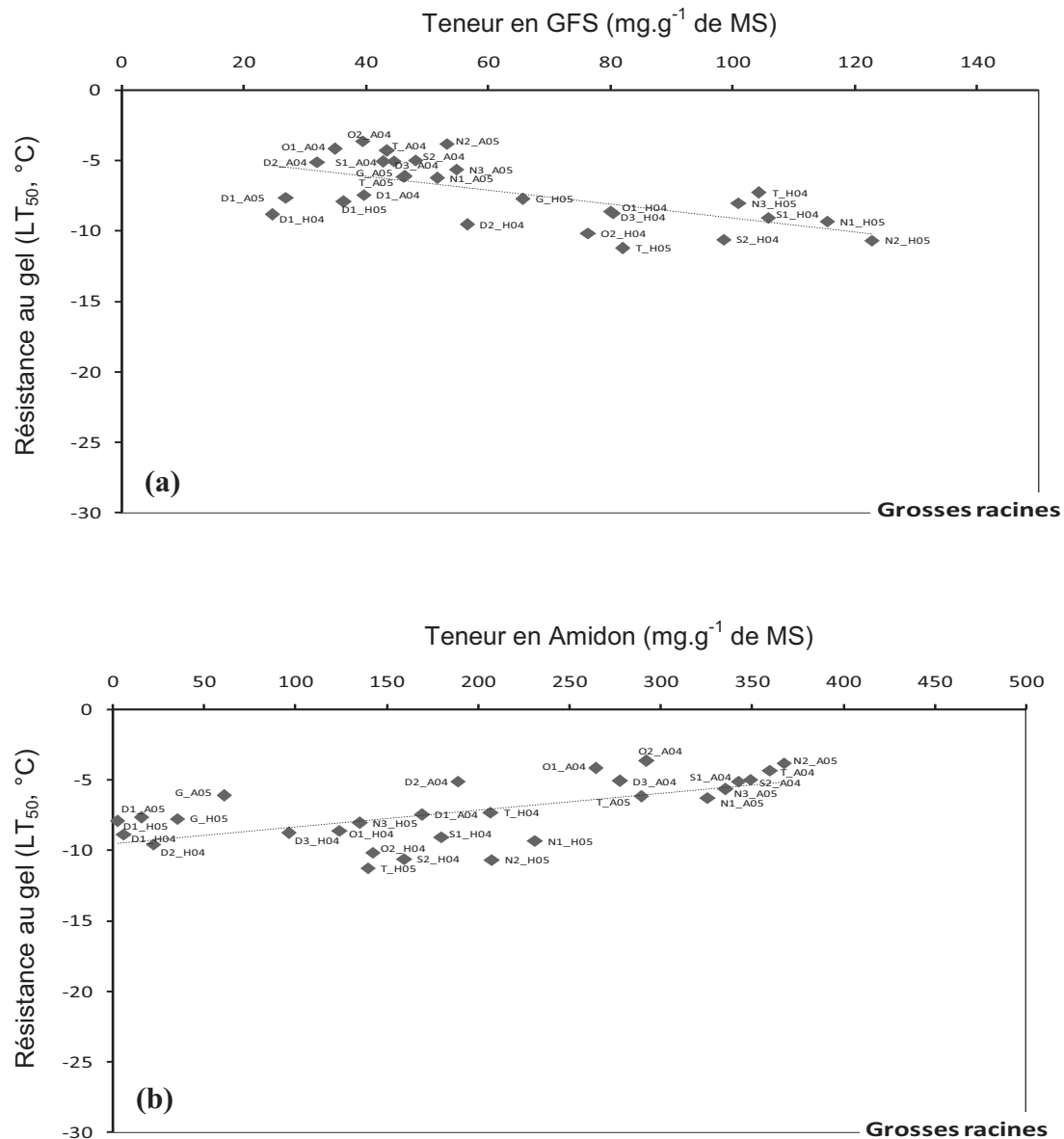


Figure III.B.3 : Régression linéaire entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles (GFS) (a) ou en amidon (b) des grosses racines de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel des grosses racines est positivement et passablement corrélée avec la teneur en amidon des grosses racines. La corrélation est significative mais seulement 39% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en amidon ($LT_{50} = f([Amidon])$) ($r^2 = 0,388$, coefficient de Pearson : $+0,623$, $P < 0,004$). Donc, les variations de la teneur en amidon ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel des grosses racines.

La figure III.B.4 présente les régressions linéaires entre la résistance au gel et les teneurs en sucres solubles ou en amidon du pivot de jeunes noyers en conteneur.

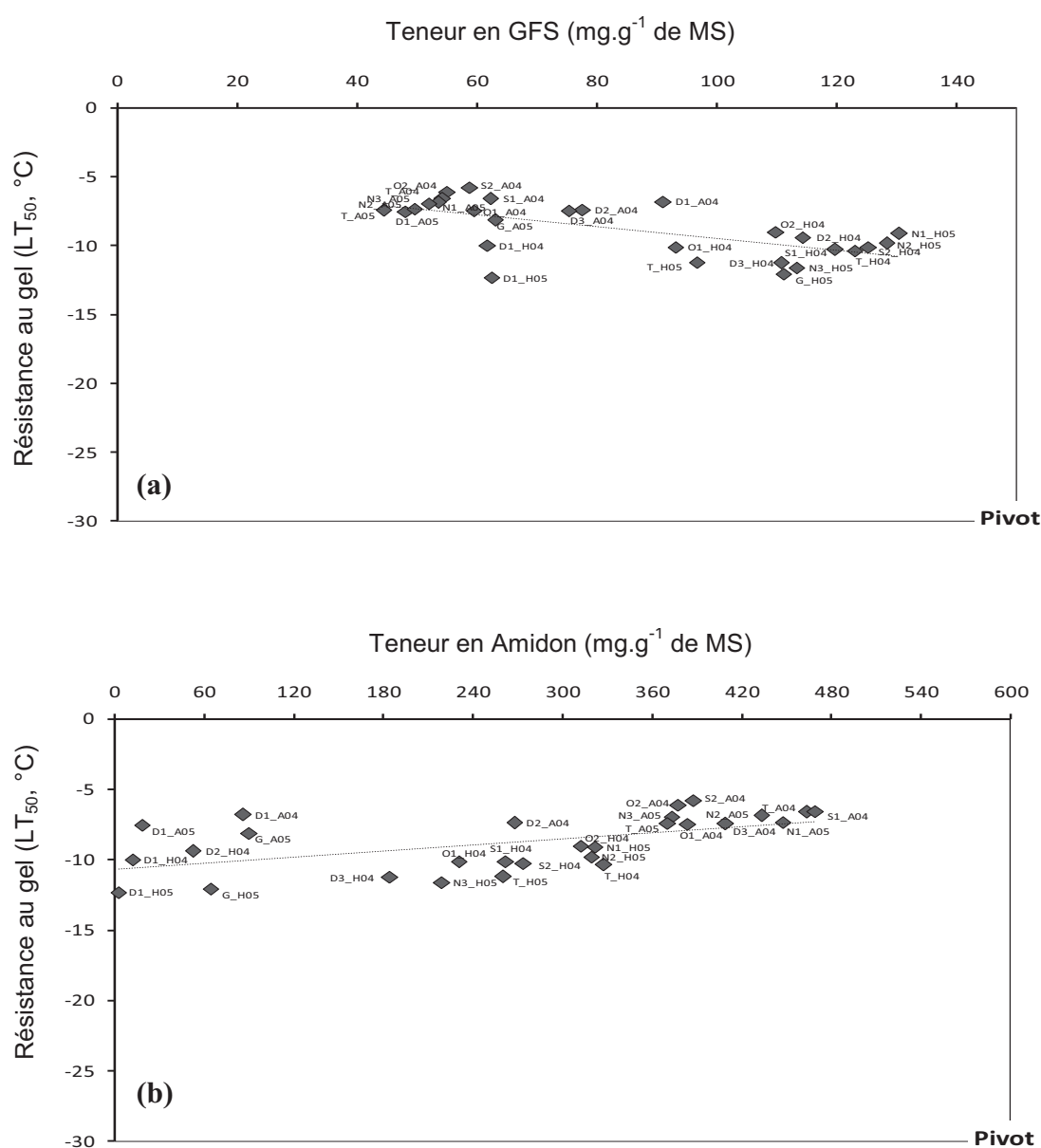


Figure III.B.4 : Régression linéaire entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles (GFS) (a) ou en amidon (b) du pivot de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel du pivot est négativement et passablement corrélée avec la teneur en sucres solubles de l'organe. La corrélation est significative mais seulement 42% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en sucres solubles ($LT_{50} = f([GFS])$) ($r^2 = 0,424$, coefficient de Pearson : $-0,651$, $P < 0,002$). Donc, les variations de la teneur en sucres solubles ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel du pivot.

La résistance au gel du pivot est positivement et passablement corrélée avec la teneur en amidon de l'organe. La corrélation est significative mais seulement 30% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en amidon ($LT_{50} = f([Amidon])$) ($r^2 = 0,300$, coefficient de Pearson : $+0,548$, $P = 0,003$). Donc, les variations de la teneur en amidon ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel du pivot.

La *figure III.B.5* présente les régressions linéaires entre la résistance au gel et les teneurs en sucres solubles ou en amidon du tronc de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel du tronc est négativement et fortement corrélée avec la teneur en sucres solubles de l'organe. La corrélation est significative. 63% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en sucres solubles ($LT_{50} = f([GFS])$) ($r^2 = 0,626$, coefficient de Pearson : $-0,792$, $P < 0,0001$).

La résistance au gel du tronc est positivement et passablement corrélée avec la teneur en amidon de l'organe. La corrélation est significative mais seulement 45% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en amidon ($LT_{50} = f([Amidon])$) ($r^2 = 0,451$, coefficient de Pearson : $+0,672$, $P < 0,0001$). Donc, les variations de la teneur en amidon ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel du tronc.

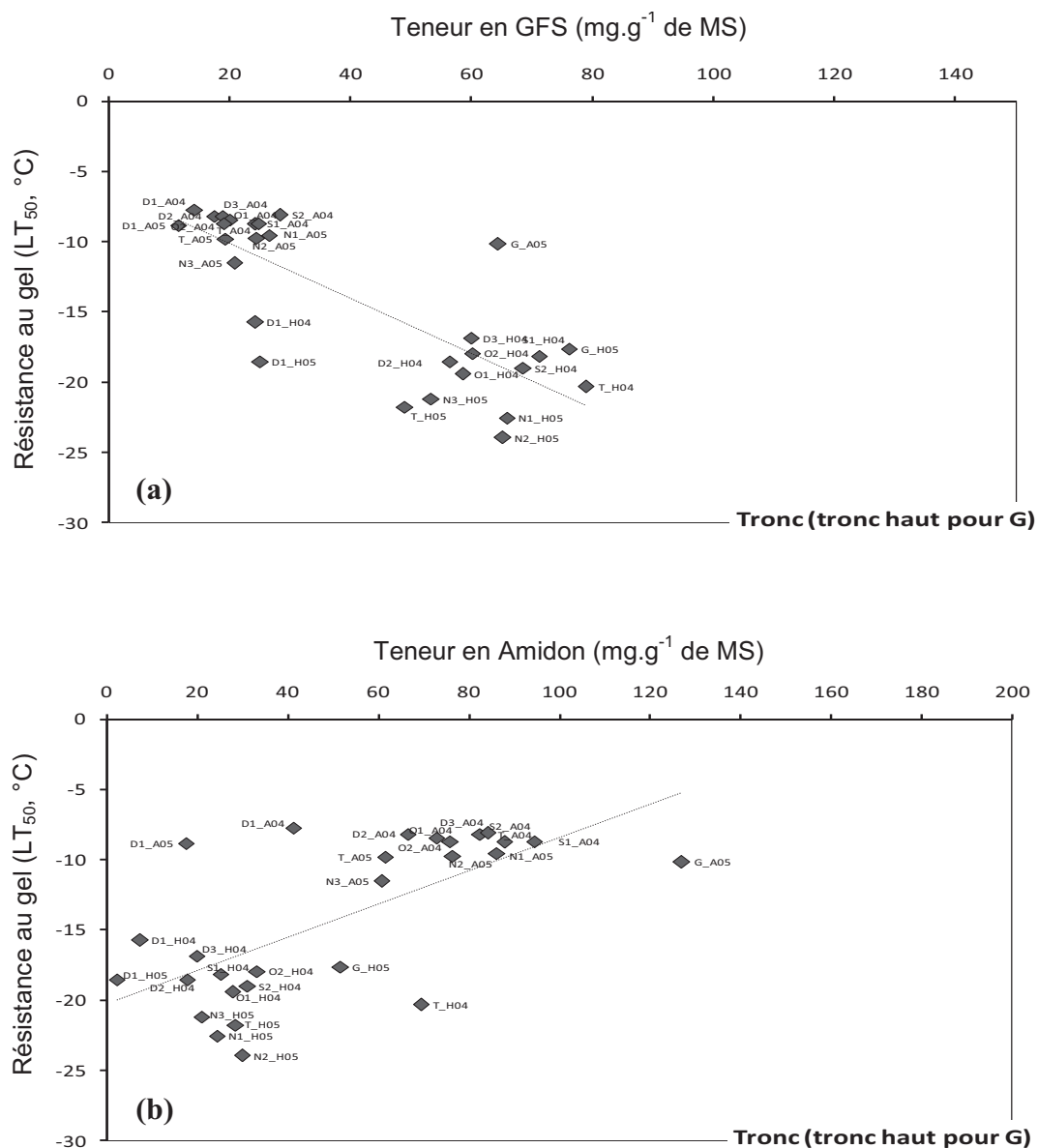


Figure III.B.5 : Régression linéaire entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles (GFS) (a) ou en amidon (b) du tronc de jeunes noyers en conteneur.

La figure III.B.6 présente les régressions linéaires entre la résistance au gel et les teneurs en sucres solubles ou en amidon des rameaux de l'année de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel des rameaux de l'année est négativement et très fortement corrélée avec la teneur en sucres solubles de l'organe. La corrélation est significative. 82% de la

variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en sucres solubles ($LT_{50} = f([GFS])$) ($r^2 = 0,824$, coefficient de Pearson : $-0,908$, $P < 0,0001$).

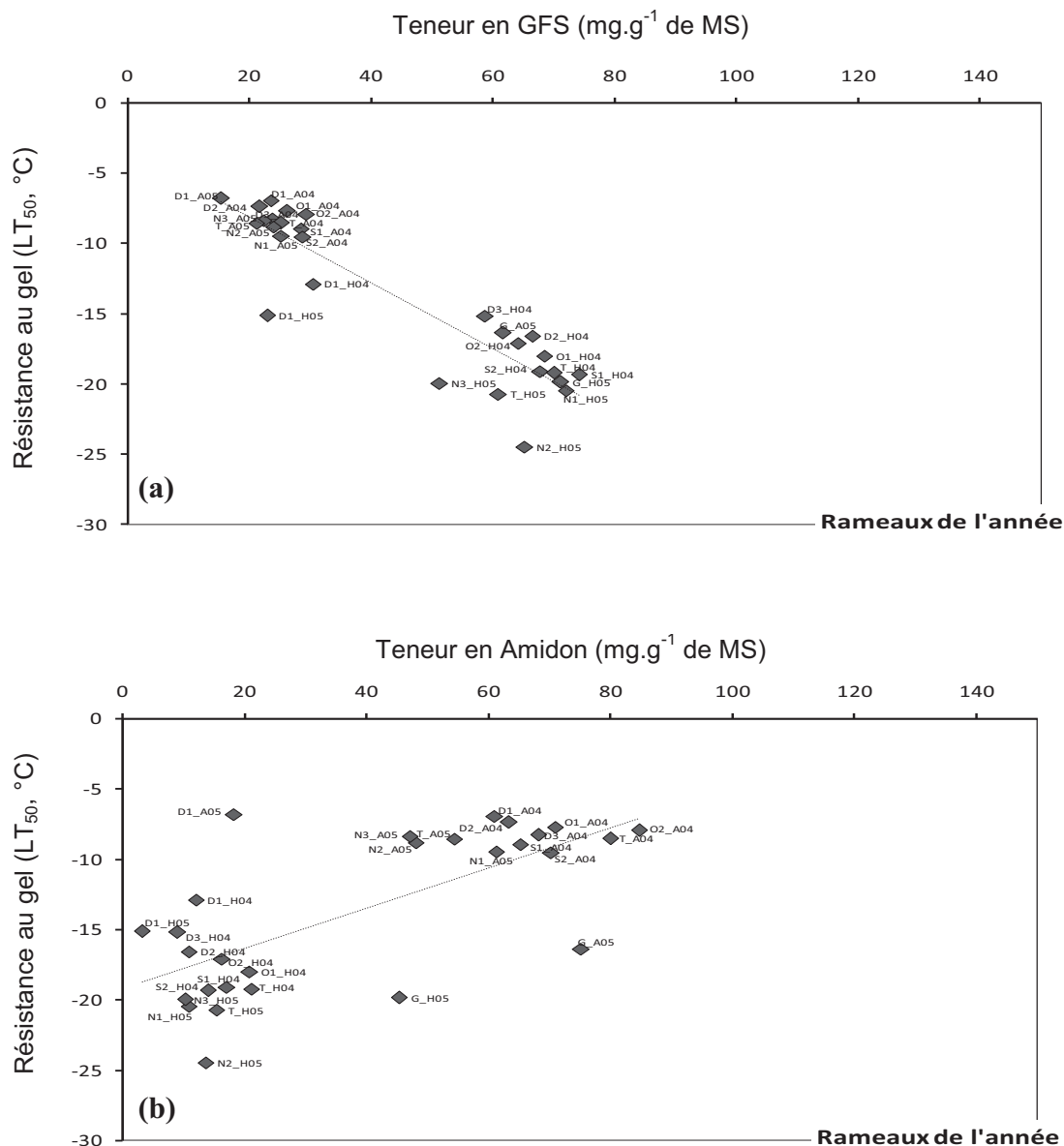


Figure III.B.6 : Régression linéaire entre la résistance au gel (LT_{50}) et les teneurs en sucres solubles (GFS) (a) ou en amidon (b) des rameaux de l'année de jeunes noyers en conteneur.

La résistance au gel des rameaux de l'année est positivement corrélée avec la teneur en amidon. La corrélation est significative. 49% de la variabilité de la valeur du LT_{50} peut être expliquée par la liaison avec la teneur en amidon ($LT_{50} = f([Amidon])$) ($r^2 = 0,493$,

coefficient de Pearson : +0,703, $P < 0,0001$). Donc, les variations de la teneur en amidon ne peuvent pas, à elle seules, expliquer les variations de la résistance au gel des rameaux de l'année.

<i>Coefficients</i>	<i>Relations</i>	<i>Rameaux de l'année</i>	<i>Tronc (tronc haut pour G)</i>	<i>Pivot</i>	<i>Grosses racines</i>	<i>Racines fines</i>
Coefficient de détermination R^2	$LT_{50} = f ([GFS])$	0,824	0,626	0,424	0,399	0,162
	$LT_{50} = f ([Amidon])$	0,493	0,451	0,300	0,388	0,293
Coefficient de Pearson	$LT_{50}=f ([GFS])$	-0,908 $P < 0,0001$	-0,792 $P < 0,0001$	-0,651 $P < 0,0002$	-0,632 $P < 0,0004$	-0,404 $P = 0,033$
	$LT_{50}=f ([Amidon])$	+0,703 $P < 0,0001$	+0,672 $P < 0,0001$	+0,548 $P = 0,003$	+0,623 $P < 0,0004$	+0,542 $P = 0,003$

Tableau III.B.3 : Coefficient de détermination (R^2) et de corrélation de Pearson des différentes relations entre la résistance au gel (LT_{50}) et la teneur en sucres solubles (GFS) ou en amidon des différents organes de jeunes noyers en conteneur.

Discussions

L'eau est présente dans tous les tissus, aussi bien dans le milieu intracellulaire qu'extracellulaire. Lorsque la température descend en dessous de 0°C , la cristallisation est généralement initiée dans les espaces intercellulaires, entre le protoplaste et la paroi. Donc, les résultats sur la température de formation de la glace (exotherme primaire) que nous présentons correspondent à la température de nucléation du milieu extracellulaire car ce milieu possède une température de cristallisation plus élevée (lié à une teneur en solutés plus faible), que celle du milieu intracellulaire (Thomashow, 1999). Nos résultats indiquent que, pour la majorité des traitements et malgré les variations de résistance au gel, les conditionnements estivaux n'ont pas modifié la température hivernale de la formation de la glace dans les différents organes étudiés (racines fines, pivot, rameaux de l'année). Cette prise en glace se situe en moyenne vers -7°C , hors, la résistance au froid mesurée approche, elle, les -25°C , notamment dans les rameaux d'un an. Il semble alors que les variations de résistance au gel observées ne soient pas dues à l'abaissement de la température de formation du premier cristal de glace (encore appelée température de nucléation) et donc à des modifications du

contenu en eau des tissus. La différence de potentiel chimique qui se crée entre la glace du milieu externe et l'eau à l'état liquide du milieu interne, provoquent une sortie progressive d'eau et une diminution du volume cellulaire. L'eau n'est donc pas perdue mais seulement déplacer d'un milieu à l'autre. La membrane plasmique et la paroi constituent une sorte de barrière entre le milieu intra- et extracellulaire, empêchant la progression des cristaux de glace dans le cytoplasme. Tant que le plasmalemmme et la paroi restent intacts, le milieu intracellulaire est isolé et ne gèle pas (Yamada *et al*, 2002). La cristallisation extracellulaire protège les cellules de la formation de la glace dans le milieu intracellulaire, partant elle contribue à leur résistance au gel. Les évolutions de résistance au gel sont probablement liées à des modifications des solutés dans le milieu intracellulaire, notamment les teneurs en sucres solubles (chapitre III.A).

Nous émettons alors l'hypothèse d'une liaison forte de la résistance au gel avec les teneurs en glucides, en particulier les sucres solubles.

Plusieurs pistes de recherche suggèrent que l'endurcissement au gel des plantes ligneuses à l'automne pouvait résulter de la hausse simultanée en glucides du milieu intracellulaire. Les études sur le mécanisme d'endurcissement ont indiqué que les sucres sont directement impliqués dans le processus d'endurcissement. Quand les températures sont inférieures à 0°C et lorsque la glace se forme dans le milieu extracellulaire, les sucres réduisent le niveau d'eau diffusé au travers de la cellule. Ils stabilisent la structure cellulaire dès que la formation de la glace provoque la déshydratation de la cellule (Ögren, 1999). Nous avons donc fait varier la teneur en glucides (sucres solubles et amidon) dans les différents organes de l'arbre pour vérifier la réalité de la liaison avec la résistance au gel. L'étude des corrélations entre la résistance au gel (LT₅₀) et la teneur en sucres solubles, mais également avec l'amidon, pour les différents organes de l'arbre montre que les meilleures corrélations sont obtenues entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles. Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux, notamment, ceux réalisés par Tinus *et al*, en 2000. Ils ont montré une correspondance étroite entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles d'aiguilles, de tiges et de racines de trois espèces de conifères (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus radiata* D. Don et *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* (Beissn.) Franco). Ils exposent également une relation étroite entre l'augmentation et la diminution de la teneur en sucres solubles pendant l'endurcissement et le désendurcissement, respectivement (Tinus *et al*, 2000). Les mêmes résultats ont été obtenus chez l'eucalyptus (Leborgne *et al*, 1995). Une autre étude réalisée sur des cellules d'eucalyptus apporte aussi des arguments en faveur de

l'implication des sucres solubles dans la résistance au gel. Par exemple, cette étude indique que les cellules appartenant au génotype "résistant au gel" sans acclimatation préalable contiennent beaucoup de sucres solubles, que l'exposition des cellules aux basses températures induit une augmentation de la teneur en sucres solubles seulement pour des suspensions cellulaires qui n'ont pas été acclimatées auparavant et que l'incubation des cellules avec certains sucres (i.e. le raffinose) aboutit à une augmentation de la résistance au gel des cellules (Travert *et al*, 1997). Lorsque des protoplastes d'*Arabidopsis thaliana* sont incubés dans une solution de saccharose, de glucose ou de fructose, la résistance au gel des protoplastes est augmentée (Uemura et Steponkus, 2003). Ces résultats supportent également le rôle cryoprotectant des sucres solubles dans les tissus de la plante par l'enrichissement artificielle des cellules par différents sucres (Travert *et al*, 1997 ; Uemura et Steponkus, 2003).

Mais nous avons mis en évidence un paradoxe : une forte teneur en sucres solubles ne signifie pas toujours une résistance au gel élevée (*figure III.B.7*). Au sein de la plante, la résistance au gel varie entre les différents organes.

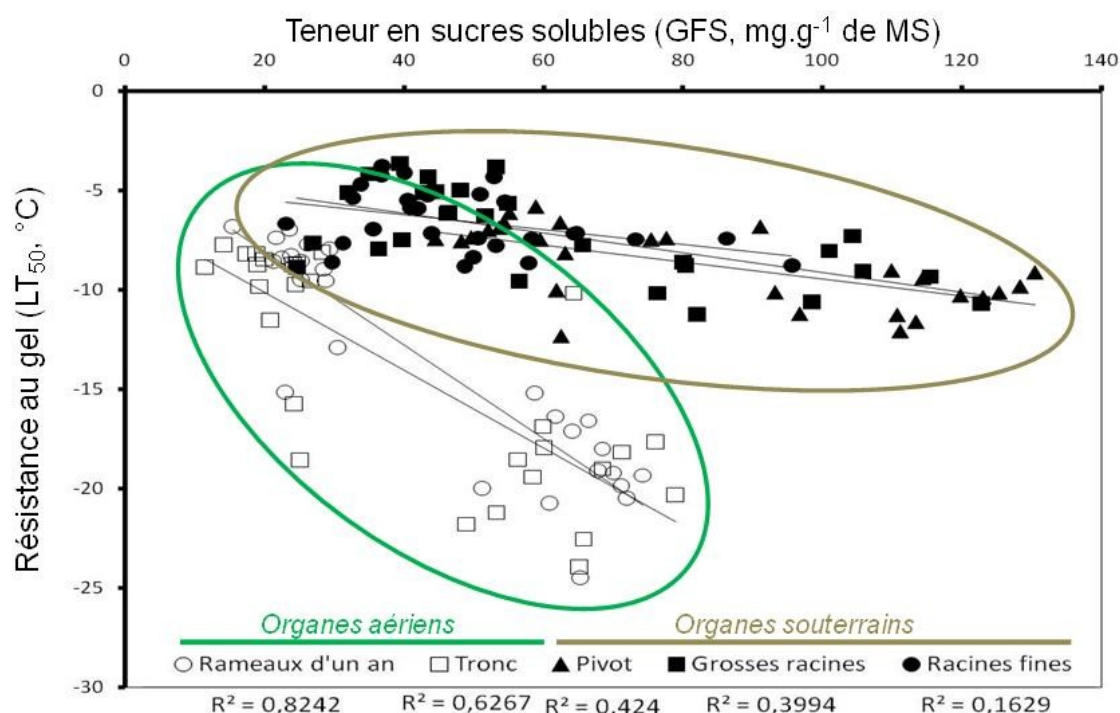


Figure III.B.7 : Synthèse des résultats de l'étude de la relation entre les teneurs en sucres solubles et la température de résistance au gel

Il existe une différence de résistance au gel entre les organes d'un arbre (Tronc \geq Rameaux de l'année \geq Pivot \geq Racines fines \geq Grosses Racines). En effet, les organes souterrains sont généralement moins résistants au gel que les organes aériens (Sakai et Larcher, 1987). La

résistance des organes souterrains est proche de la température de l'exotherme primaire (environ -7°C pour le noyer) (*tableau III.B.1 et III.B.2*). L'amplitude thermique d'endurcissement entre la valeur de résistance au gel d'automne et celle d'hiver est plus grande pour les organes aériens que pour les organes souterrains. L'une des explications possibles provient de l'environnement de développement de ces organes. En effet, les organes souterrains ont une protection thermique naturelle avec le sol. On peut donc penser qu'au fil de l'évolution, le développement de la résistance au gel des organes souterrains n'a pas nécessité les mêmes investissements métaboliques et structurels que les parties aériennes pour résister aux basses températures. Au niveau métabolique, les organes souterrains possèdent, tout d'abord, une quantité de réserves carbonées beaucoup plus importante que celle des organes aériens (*cf.* chapitre III.A). Le substrat énergétique utilisé pour les différents métabolismes végétaux est donc présent. Il est plus fortement utilisé (respiration d'entretien, remobilisation vers les autres organes, croissance des apex racinaires) dans les organes souterrains (OS) que dans les organes aériens (OA). Il semble donc que cela ne proviennent pas d'un problème au niveau du métabolisme.

Au niveau structurel, les parties racinaires ont une plus grande proportion de cellules vivantes (Priestley, 1981). Si on considère que les mouvements d'eau induits par la glace formée en milieu extracellulaire, témoignant d'une congélation en premier dans ces espaces extracellulaires, est un facteur primordial de résistance au froid, ces mouvements d'eau et la formation de glace extracellulaire nécessitent des espaces vides pour accueillir cette glace (augmentation de 7% du volume de l'eau lorsqu'elle change d'état). On peut donc se demander si les organes souterrains ont suffisamment de zones vides dans leur structure pour recevoir cette glace. En 2002, Yamada et ses collaborateurs ont montré que la membrane plasmique et la paroi pouvaient aussi influencer le comportement des cellules végétales vis à vis du gel. Leurs résultats indiquent que chez les cellules de plantes sensibles au froid, et contrairement aux cellules végétales résistantes au froid, la membrane plasmique et la paroi n'avaient pas la capacité de servir de barrière à la propagation de la glace extracellulaire (Yamada *et al*, 2002). On peut, en outre, envisager que cette capacité à servir de barrière de la membrane plasmique et de la paroi des cellules végétales des organes souterrains soit moins efficace que celle des cellules des organes aériens.

Tous les traitements utilisés durant notre étude n'ont pas les mêmes effets sur la résistance au gel des différents organes de l'arbre. Les variations de l'endurcissement au gel suite à l'alimentation en azote reflètent probablement l'effet physiologique de l'azote

(Thomas et Ahlers, 1999). En effet, l'endurcissement au gel nécessite la synthèse de nouvelles protéines et des remaniements cellulaires (Pomeroy et Siminovitch, 1971 ; Guy, 1990). Toutes ces modifications requièrent probablement de l'azote. Une carence de ce composé perturberait donc le processus d'endurcissement. Hors, nos résultats indiquent que la carence en azote précoce favorise la résistance au gel dans les rameaux de l'année et les racines fines du noyer. Des travaux réalisés sur *Picea sitchensis* montrent qu'une carence en azote augmente également la résistance au gel des aiguilles. De plus, l'effet positif de la carence azotée est plus important durant la phase d'acquisition du niveau maximal de résistance au gel (endurcissement) (Jalkanen *et al*, 1998). Par contre, ces résultats restent en accord avec notre hypothèse sur le rôle des sucres solubles sur la résistance au gel car les effets positifs de cette carence sur la résistance au gel coïncident avec un niveau plus élevé des teneurs en sucres solubles dans ces organes.

Nos résultats indiquent également que l'application des traitements sécheresses provoque une augmentation significative de la résistance au gel hivernal des grosses racines. Durant l'acclimatation des plantes au stress hydrique, plusieurs changements métaboliques et physiologiques se produisent (Levitt, 1980). Ils permettent d'augmenter la résistance à la dessiccation des plantes (Maldonado *et al*, 1997). En réponse à la sécheresse ou à la dessiccation, de nombreuses plantes accumulent des disaccharides (*i.e.* saccharose) (Garg *et al*, 2002 ; Bernacchia et Furini, 2004) (chapitre III.A). L'accumulation de sucres dans les cellules peut accroître la tolérance à la déshydratation chez les plantes par leur effet osmotique qui limite les pertes en eau de la cellule (Gebre *et al*, 1994 ; Gebre et Tschaplinski, 2002), mais également par leur effet protecteur en interagissant avec les groupes polaires des lipides grâce à leurs atomes d'hydrogène (Crowe, 1992 cité par Hoekstra *et al*, 2001). Ces processus de maintien de l'eau peuvent également intervenir pour résister au gel. Nous pouvons également remarquer que nos traitements sécheresses (précoce et tardive) n'ont pas eu d'effet si néfaste que cela sur la résistance au gel des arbres. Le fait d'avoir appliqué le traitement seulement en première partie de la période estivale de croissance a permis à la plante de combler ses pertes durant la deuxième partie. Pour la sécheresse tardive en deuxième période estivale de croissance, la première période a permis à l'arbre de se constituer les réserves en carbone nécessaire pour affronter l'hiver. Il aurait peut-être été plus judicieux d'appliquer un traitement sécheresse sur une plus grande période (ex. continu durant tout l'été).

Les traitements défoliations n'ont pas d'effet négatif sur les organes souterrains. Le faible niveau d'endurcissement de ces organes ne permet pas de mettre en évidence

l'influence de ces traitements dans cette partie de l'arbre. De plus, le niveau des teneurs en glucides (cf. chapitre III.A) semble suffisant pour ne pas être préjudiciable au processus d'endurcissement au gel. Par contre, les organes aériens sont beaucoup plus affectés par ces traitements. En effet, nous observons une réduction significative de la résistance au gel hivernal de ces organes qui est proportionnelle à la durée de la défoliation. Elle peut s'expliquer par une réduction significative de la teneur en sucres solubles et un épuisement de l'amidon en hiver (cf. chapitre III.A). Cet effet est en accord avec ceux de la littérature. En effet, des travaux réalisés sur *Quercus robur* L. montrent qu'une défoliation répétée des arbres réduit la capacité d'acclimatation du phloème secondaire de tige aux gels d'hiver en raison d'une diminution des teneurs en sucres solubles (raffinose et stachyose) (Thomas *et al*, 2004). Il n'a pas d'effet significatif sur les organes souterrains.

Enfin, l'ombrage réduit le niveau d'endurcissement hivernal du tronc et des rameaux de l'année. La même hypothèse, formulée pour expliquer les variations de la résistance au gel à la suite des traitements de défoliations, peut être émise pour ce traitement.

Cette étude a mis en évidence une variation de la résistance au gel concomitante avec la variation, induite par des traitements, de la teneur en glucides, notamment les sucres solubles. Contrairement aux organes souterrains, les organes aériens présentent une liaison plus forte entre la résistance au gel (LT_{50}) et la teneur en sucres solubles et en amidon. Dans les organes souterrains, les teneurs en sucres solubles et en amidon sont très élevées. Ces organes emmagasinent plus de réserves glucidiques qu'ils en ont besoin. Ce qui suppose qu'une partie de ces réserves glucidiques pourra être remobilisée vers d'autres compartiments de l'arbre et servir à d'autres fonctions physiologiques telles que la reprise de la croissance au printemps et la respiration (de croissance et d'entretien). En outre, dans les organes souterrains, d'autres composées (ex. acides aminés) pourraient intervenir dans la résistance au gel et expliquer les différences de résistance au gel entre les organes aériens et souterrains de l'arbre (Chapitre III.B).

A court terme (l'hiver suivant l'application des traitements), l'impact des différents conditionnements estivaux sur la résistance au gel est variable selon les organes. La résistance au gel des organes souterrains est moins influencée par les différents traitements. Certains

stress (sécheresse précoce et tardive, carence en azote précoce et ombrage précoce) permettraient d'augmenter la résistance au gel hivernal des organes souterrains de l'arbre (racines fines et grosses racines). L'histoire culturale des arbres est donc importante pour la qualité de l'endurcissement au gel des organes aériens de l'arbre.

Nos résultats montrent également que la liaison entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles (glucose + fructose+ saccharose) est forte pour les organes aériens. Elle est plus faible mais significative pour les organes souterrains.

Dans l'objectif futur d'une prédiction de la résistance au gel pour anticiper les risques de dépérissement des arbres liés au gel, la teneur en sucres solubles peut être utilisée comme variable dans un modèle. De plus, en fonction des conditions de cultures, nous pouvons prédire les risques.

Il est maintenant nécessaire de vérifier si les résultats obtenus sur de jeunes arbres en conteneur seront réitérés sur des arbres adultes en conditions naturelles.

**Chapitre IV : Validation des effets des stress estivaux sur la
résistance au gel et la teneur en glucides du noyer adulte
en verger**

Introduction

La majorité des résultats scientifiques sont le plus souvent obtenus sur des plants de faibles dimensions (< 1 mètre de hauteur) et en conditions contrôlées. Si l'utilisation de plants en conteneur permet de mener des études comme celle décrite au chapitre précédent, le risque d'obtenir des résultats peu représentatif du fonctionnement de l'arbre au stade adulte existe. C'est pourquoi, nous avons tenté de vérifier ici si les résultats obtenus sur de jeunes arbres en conteneur étaient représentatifs du fonctionnement d'arbres adultes en verger.

Pour répondre à cet objectif, nous avons appliqué sur des noyers adultes en plein champ trois traitements (témoin, défoliation et annélation : sur le même arbre) se rapprochant des traitements utilisés sur les jeunes arbres en conteneur. Pour la faisabilité du protocole, nous nous sommes basés sur les travaux de Lacointe *et al* de 2004. Leurs travaux montraient, sur de jeunes noyers à deux branches, l'une ombragée et l'autre non, qu'il existe une quasi-autonomie des branches en été (mouvement de carbone faible entre les deux rameaux de l'arbre (moins de 1% de l'assimilation nette diurne de la branche)).

Le matériel végétal utilisé dans ce chapitre est décrit dans le paragraphe 1.1 (noyers "Franquette" plantés en 2000) (page 87). Les traitements appliqués sont décrits dans le paragraphe 1.2.1.2 (page 89) et 1.2.1.4 (page 90) (annélation et défoliation de type 1). Les méthodes dont nous nous sommes servies sont présentées dans le premier chapitre de ce manuscrit de thèse (résistance au gel (LT_{50})), dans les paragraphes 2.2.1 et 2.2.2 (croissance en diamètre) (page 97 et 98), 2.2.4 (surface foliaire) (page 101), 2.5 (dosages glucidiques) (page 104) et 3.1 (analyse statistique) (page 117).

Résultats

Les conditionnements sont réalisés sur les trois charpentières d'un même arbre afin de s'affranchir des conditions édaphiques du champ. Le développement estival des différentes charpentières a été suivi : la croissance en diamètre des rameaux d'âge $n+1$ et une estimation de la surface foliaire sur les charpentières traitées. A l'automne et en hiver, nous avons évalué la teneur en glucides (sucres solubles et amidon) et la résistance au gel (LT_{50}) des rameaux de l'année.

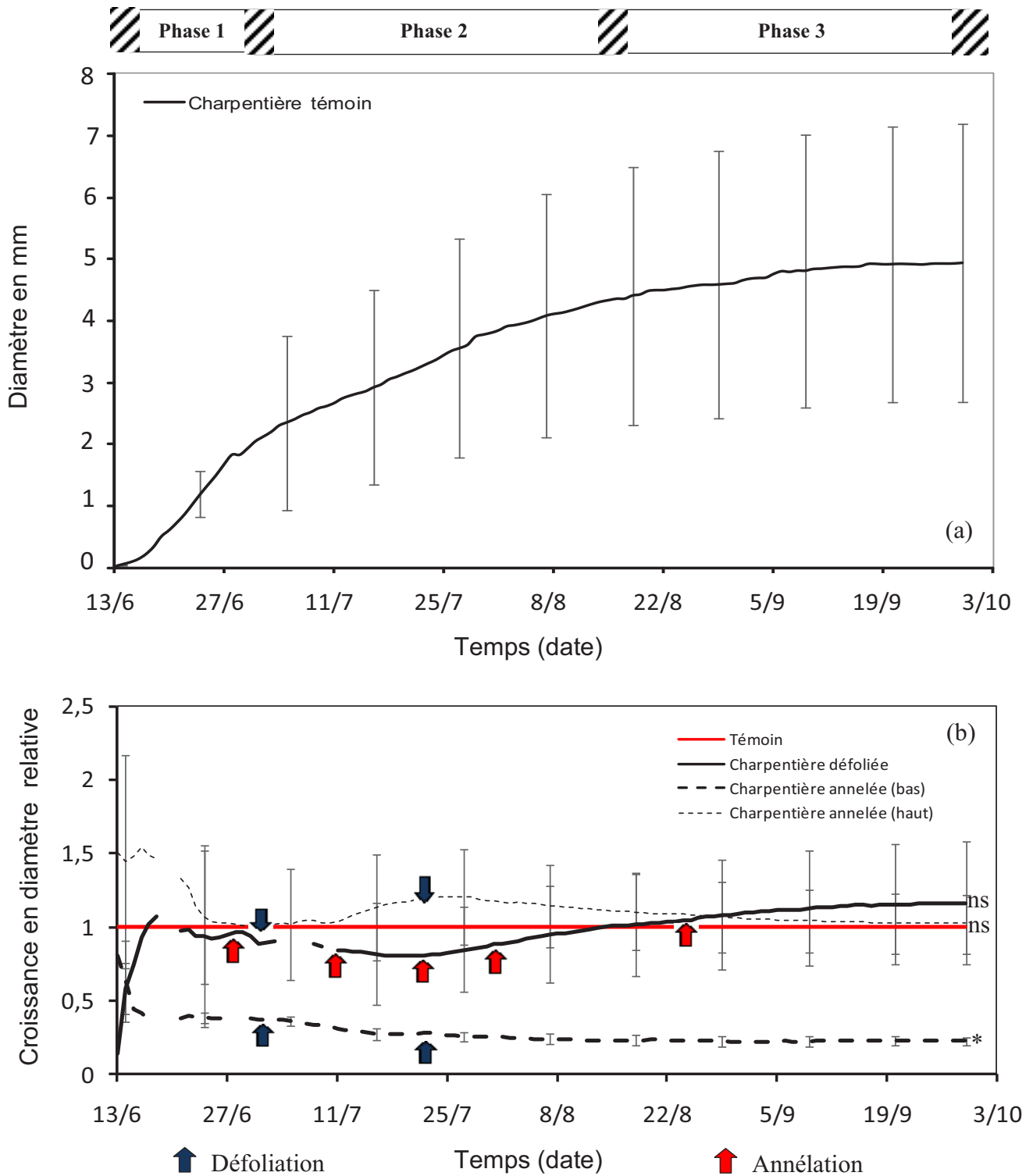


Figure IV.1 : (a) Croissance de la charpentière témoin. (b) Croissance en diamètre relative (par rapport à la croissance des rameaux d'âge n+1 de la charpentière témoin) des rameaux d'âge n+1 des différentes charpentières de noyers 'Franquette' adultes (moyenne, \pm SE, $n=3$; en fin de stress, ns : différence non significative, * : significative et $P = 0,037$). Les flèches indiquent les moments d'application ou de renouvellement des traitements.

4.1 Description du développement des différentes charpentières

Cette description sera limitée à la croissance en diamètre des rameaux d'âge $n+1$ et à la surface foliaire produite et présente sur les différentes charpentières.

En absence de traitement, la charpentière témoin présente une croissance très active au début de la période estivale (vitesse de croissance en diamètre moyenne : $144 \pm 32 \mu\text{m/j}$). Cette phase s'arrête durant la 1^{ère} semaine de juillet pour laisser place à une période de croissance plus faible (vitesse de croissance en diamètre moyenne : $63 \pm 7 \mu\text{m/j}$). Cette 2^{ème} phase de croissance est stoppée vers la mi-août. Une troisième période à croissance très faible s'installe alors (vitesse de croissance en diamètre moyenne : $15 \pm 5 \mu\text{m/j}$) (*figure IV.1(a)*).

Chaque charpentière a subi un conditionnement ('défoliation' ou 'annélation' ou 'témoin'). Pour le traitement annélation, la croissance a été mesurée en dessous (côté tronc) et au dessus (côté feuilles) de l'anneau de décortication. La *figure IV.1(b)* montre la croissance en diamètre relative des charpentières témoin et traitées des noyers adultes en plein champ.

La croissance en diamètre relative des rameaux de la charpentière défoliée et de la partie des rameaux d'âge $n+1$ de la charpentière annelée située après l'anneau de décortication (côté feuilles) n'est pas significativement différente de celle des rameaux d'âge $n+1$ de la charpentière témoin ($P > 0,05$).

A l'opposé, le segment localisé avant l'anneau de décortication (côté tronc) montre une croissance en diamètre relative extrêmement ralentie par rapport au témoin.

L'évolution de la surface foliaire des différentes charpentières de l'arbre au cours de la période d'expérimentation est présentée sur la *figure IV.2*.

En fin d'expérimentation, la surface foliaire produite par la charpentière témoin est en moyenne de $10,5 \pm 2,1 \text{ m}^2$. Celle produite par la charpentière annelée est en moyenne de $6,7 \pm 1,4 \text{ m}^2$. La surface foliaire produite par la charpentière témoin et la charpentière annelée n'est pas significativement différente ($P = 0,251$) en fin de période estivale de croissance.

A l'inverse, la surface foliaire produite par la charpentière défoliée devient significativement plus importante de celle produite par la charpentière témoin ($P < 0,05$), à partir du 26 juillet 2005. La surface foliaire présente sur la charpentière défoliée est, tout au long du traitement, significativement plus faible que la surface foliaire présente sur la charpentière témoin ($P < 0,05$). Elle a été maintenue en dessous de $3,2 \text{ m}^2$ durant la période d'expérimentation estivale.

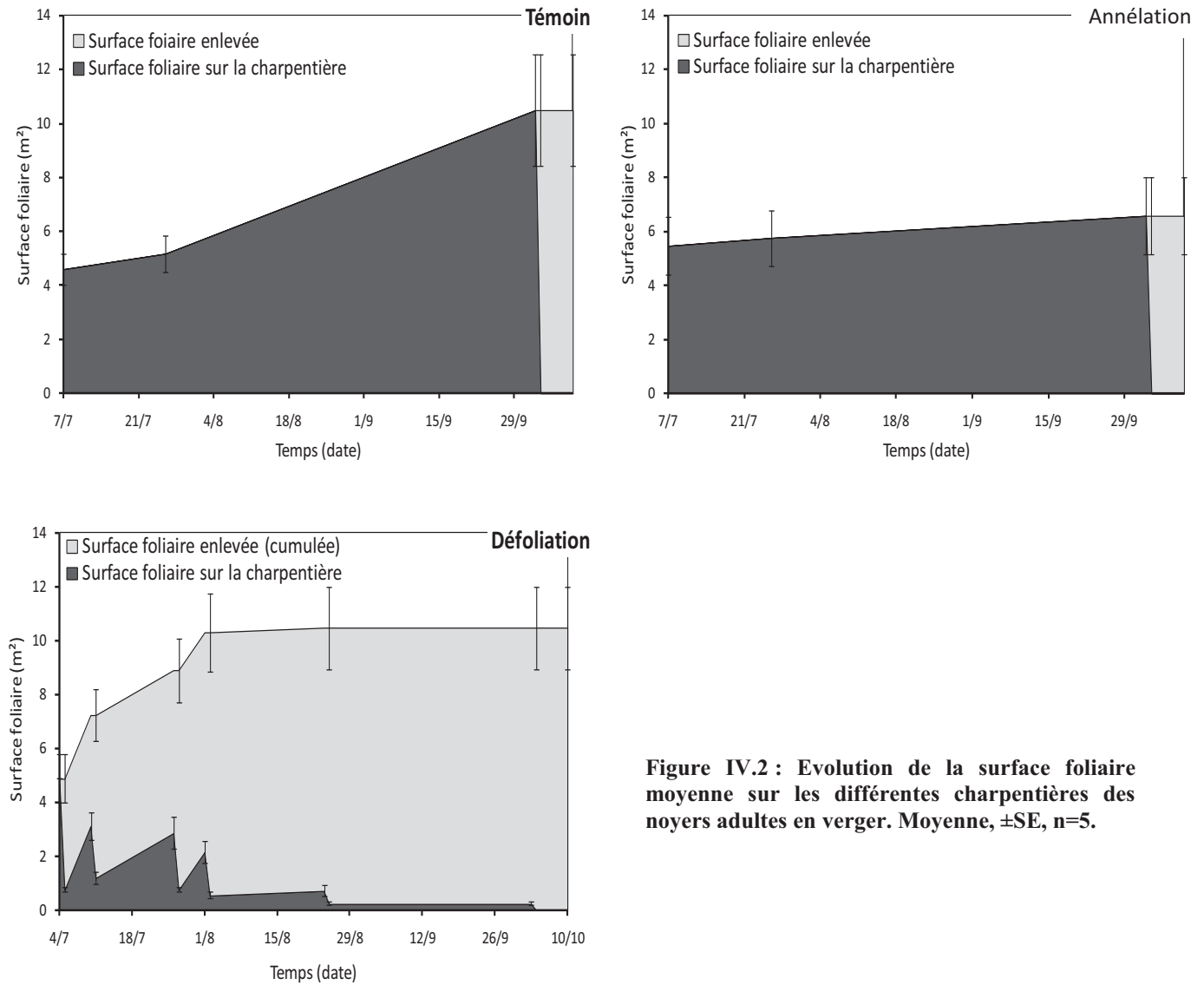


Figure IV.2 : Evolution de la surface foliaire moyenne sur les différentes charpentières des noyers adultes en verger. Moyenne, \pm SE, n=5.

4.2 Impact des traitements ‘défoliation’ et ‘annélation’ sur la teneur en glucides et la résistance au gel des rameaux de l’année des charpentières traitées

Nous commencerons par exposer les résultats obtenus sur la variation de la teneur en glucides des rameaux de l’année des différentes charpentières avant de montrer que la résistance au gel des rameaux de l’année varie entre les différentes charpentières.

4.2.1 Variation saisonnière de la teneur en glucides des rameaux de l’année des différentes charpentières traitées

Les résultats obtenus sur la variation de la teneur en glucides (sucres solubles et amidon) à l’automne et en hiver des différentes charpentières de noyers adultes en plein champ sont présentés sur la *figure IV.3*. A l’automne, la teneur en amidon dans les rameaux des charpentières témoins, annelées et défoliées est de $60,3 \pm 2,7 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS, $83 \pm 5 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS et $34,5 \pm 2 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS, respectivement. La teneur en amidon des rameaux de la charpentière défoliée est significativement plus faible que celle des rameaux de la charpentière témoin ($P < 0,0001$). La teneur en amidon des rameaux de la charpentière annelée est significativement plus élevée que celle des rameaux de la charpentière témoin ($P = 0,002$) (*figure IV.3*).

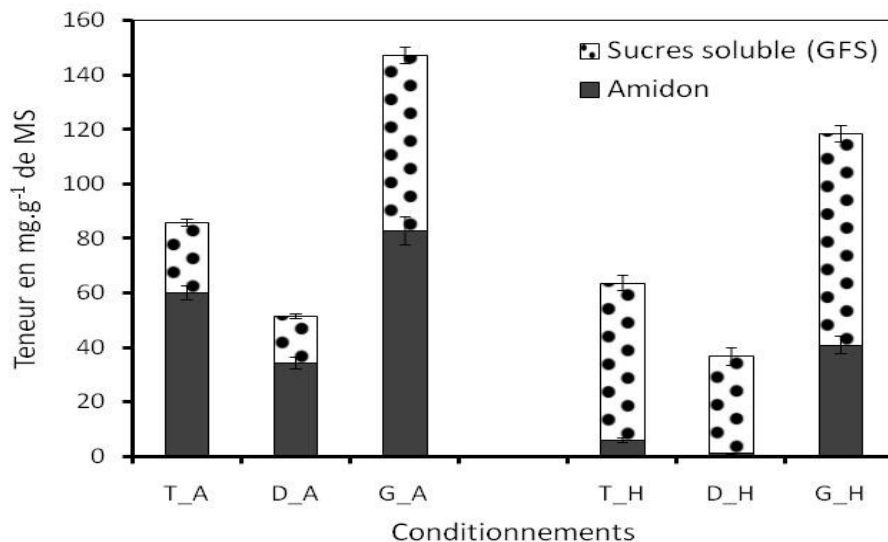


Figure IV.3 : Variation automno-hivernale de la teneur en sucres solubles et en amidon des rameaux de l’année des différentes charpentières. (H : Hiver (23 et/01/2005 et 6/02/2005)), A : Automne (10, 17 et 24/10/2005), T : Témoin, G : Annélation et D : Défoliation) (Moyenne (\pm SE), $n=15$ rameaux de l’année).

En hiver, la teneur en amidon des rameaux d’un an des charpentières témoins, annelées et défoliées est de $6,1 \pm 0,7 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS, $41 \pm 3,2 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS et $1,3 \pm 0,2 \text{ mg.g}^{-1}$

de MS, respectivement. La diminution de la teneur en amidon entre l'automne et l'hiver est très significative ($P < 0,0001$, pour tous les traitements). La teneur en amidon des rameaux d'un an de la charpentière défoliée est significativement plus faible que celle des rameaux d'un an de la charpentière témoin ($P < 0,0001$). A l'inverse, la teneur en amidon des rameaux d'un an de la charpentière annelée est significativement plus élevée que celle des rameaux d'un an de la charpentière témoin ($P < 0,0001$) (*figure IV.3*).

A l'automne, la teneur en sucres solubles (GFS) dans les rameaux de l'année des charpentières témoins, annelées et défoliées est de $25,7 \pm 1,4 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS contre $64,3 \pm 3 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS et $17 \pm 0,9 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS, respectivement. La teneur en sucres solubles des rameaux d'un an des charpentières défoliées est significativement plus faible que celle des rameaux d'un an des charpentières témoins ($P < 0,0001$) et celle des rameaux d'un an des charpentières annelées est significativement plus élevée ($P < 0,0001$) (*figure IV.3*).

En hiver, la teneur en sucres solubles est de $57,6 \pm 2,8 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS pour les charpentières témoins, de $77,7 \pm 2,9 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS pour les charpentières annelées et de $35,5 \pm 3,1 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS pour les charpentières défoliées. L'augmentation de teneur en sucres solubles, entre l'automne et l'hiver, est significative pour tous les traitements (témoin : $P < 0,0001$, annélation : $P = 0,004$, défoliation : $P < 0,0001$). La teneur en sucres solubles des rameaux d'un an des charpentières défoliées est significativement plus faible que celle des rameaux des charpentières témoins ($P = 0,0001$) et celle des rameaux des charpentières annelées est significativement plus élevée ($P < 0,0002$) (*figure IV.3*).

A l'automne, la teneur en GFSA dans les rameaux des charpentières témoins est de $86 \pm 3,7 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS, contre $147,3 \pm 3,7 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS pour le traitement annélation et $51,5 \pm 2,8 \text{ mg.g}^{-1}$ de MS pour le traitement défoliation. La teneur en GFSA des rameaux de la charpentière défoliée est significativement plus faible que celle des rameaux de la charpentière témoin ($P < 0,0001$) et celle des rameaux de la charpentière annelée est significativement plus élevée que celle des rameaux de la charpentière témoin ($P < 0,0001$) (*figure IV.3*).

Entre l'automne et l'hiver, la diminution des GFSA que l'on peut assimiler en première approximation à des pertes respiratoires pour les rameaux d'un an des charpentières témoins, annelées et défoliées sont de $25,7\% \pm 5,2\%$, $18,9\% \pm 3,7\%$ et $29,1\% \pm 3,8\%$, respectivement. Par rapport aux rameaux témoins, ces pertes respiratoires ne semblent pas être modifiées de manière significative selon le traitement de la charpentière ($P > 0,465$) (*figure IV.3*).

Dans les rameaux d'un an, à l'automne et en hiver, le traitement défoliation a donc provoqué une réduction des teneurs en amidon et en GFS, alors que le traitement annélation a induit une augmentation de ces teneurs. De plus, en hiver, la teneur en amidon diminue au profit de la teneur en sucres solubles (GFS) (interconversion amidon/sucres solubles).

4.2.2 Variation saisonnière de la résistance au gel des rameaux de l'année des différentes charpentières traitées

Les résultats de la variation automno-hivernale de la résistance au gel des rameaux de l'année des différentes charpentières de l'arbre sont présentés sur la *figure IV.4*. A l'automne, la résistance au gel des rameaux de l'année varie entre -5°C et -10°C. Seul le traitement annélation augmente significativement la résistance au gel des rameaux de l'année de la charpentière traitée (annélation : $-9,7 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$, témoin : $-5,9 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$, $P = 0,002$) (*figure IV.4*).

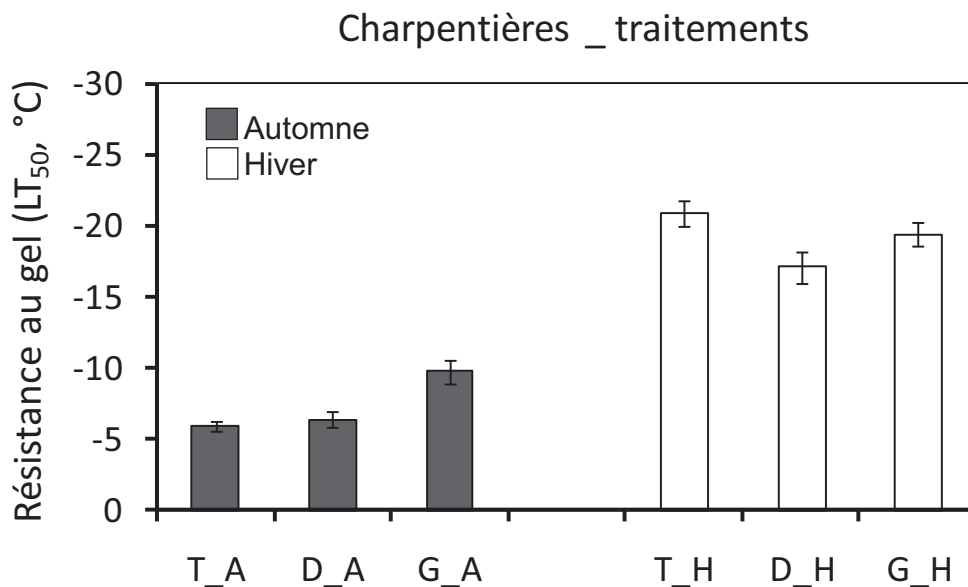


Figure IV.4 : Variation automno-hivernale de la résistance au gel (LT₅₀) des rameaux d'un an des différentes charpentières. (Moyenne (±SE), n=15 rameaux de l'année ; D : défoliation, T : Témoin, G : Annélation)

En hiver, la résistance au gel fluctue entre -17°C et -21°C. Seule la résistance au gel des rameaux de l'année de la charpentière défoliée montre une diminution significative du niveau d'endurcissement ($P = 0,006$) (*figure IV.4*).

Tableau IV.1 : Coefficients de détermination et de corrélation de Pearson des relations $LT_{50}=f(GFS)$ et $LT_{50}=f(\text{Amidon})$.

Relation	Coefficient de détermination (R^2)	Coefficient de corrélation de Pearson
$LT_{50} = f(GFS)$	0,433	-0,658 (P = 0,003)
$LT_{50} = f(\text{Amidon})$	0,383	+0,619 (P = 0,006)

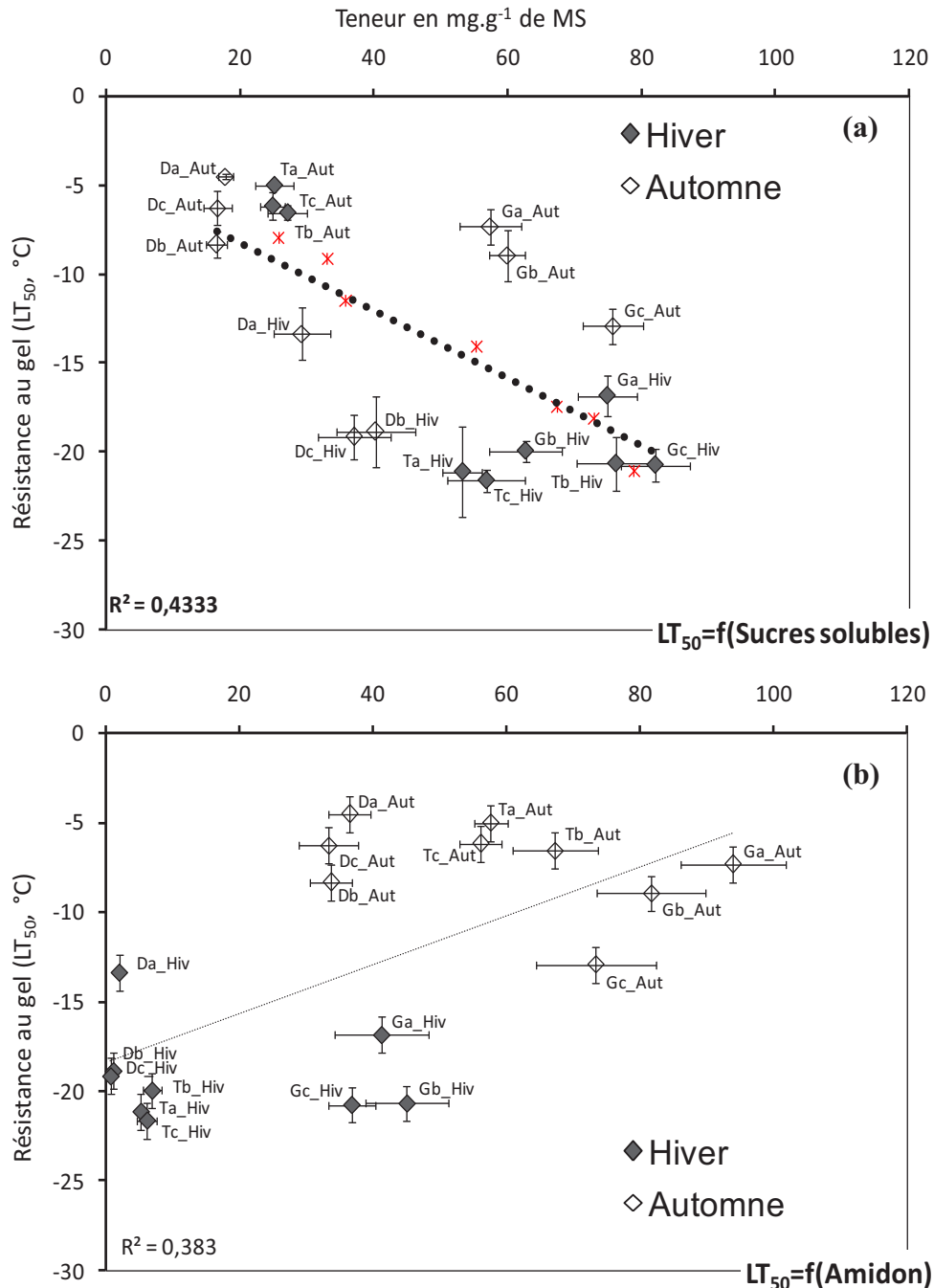


Figure IV.5 : Régressions linéaires entre la résistance au gel et la concentration en glucides (sucres solubles (a) et amidon (b)) des rameaux de l'année de charpentières traitées différemment (Aut : Automne, Hiv : Hiver ; date de prélèvement : a_Aut = 10/10/2005, b_Aut = 17/10/2005, c_Aut = 24/10/2005, a_Hiv = 23/01/2006, b_Hiv = 30/01/2006, c_Hiv = 6/02/2006 ; traitements : T=Témoin, D=Défoliation et G=Annélation) (Moyenne \pm SE, n=3 rameaux de l'année). Sur le graphique (a), les valeurs des arbres Franquette de Crouelle obtenues l'année précédente lors du suivi saisonnier sont indiquées en rouge (figure II.6).

4.3 Relation entre résistance au gel (LT_{50}) et teneur en glucides des rameaux de l'année

La figure IV.5 présente les courbes de régression linéaire entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles (figure IV.5 (a)) et en amidon correspondante (figure IV.5 (b)) à l'automne, mais également en hiver. La résistance au gel (LT_{50}) est corrélée négativement à la teneur en sucres solubles (figure IV.5 (a)). Cette corrélation est significative et d'intensité moyenne (tableau IV.1). Seul 43% des données peuvent être expliquées par cette relation. De plus, on peut remarquer que la relation globale coïncide avec le suivi saisonnier réalisé au chapitre II (figure II.6). Si on individualise la régression linéaire pour chaque traitement, on remarque que la relation est conservée et plus forte. D'autres facteurs doivent intervenir (figure IV.6).

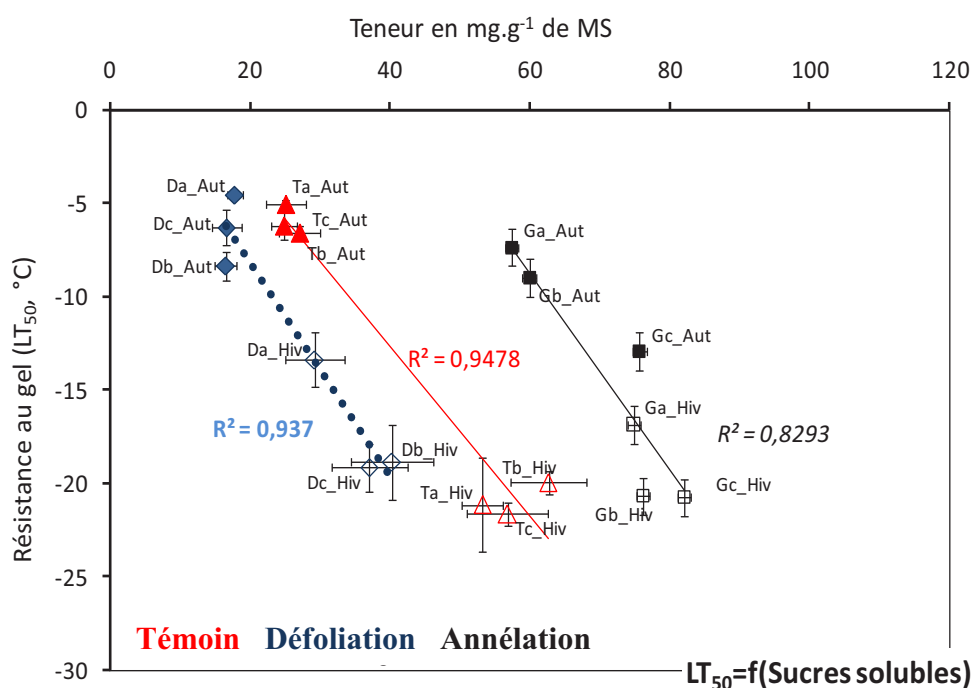


Figure IV.6 : Régressions linéaires (par traitement) entre la résistance au gel et la concentration en sucres solubles des rameaux de l'année de charpentières traitées différemment (pour la légende, cf. figure IV.5) (Moyenne \pm SE, $n=3$ rameaux de l'année).

La résistance au gel (LT_{50}) est corrélée positivement à la teneur en amidon. Cette corrélation est également significative (tableau IV.1). Seul 38% des données peuvent être expliquées par cette relation.

Discussions

Comparaison des résultats obtenus sur jeunes arbres en conteneur avec ceux obtenus sur arbres adultes en verger

Contrairement aux noyers en conteneur (chapitre III.A), les résultats de ce chapitre montrent que la croissance en diamètre des rameaux d'âge $n+1$ ne semble pas être influencée par une défoliation précoce. Autrement dit, l'effet de la défoliation précoce sur la croissance en diamètre des rameaux d'âge $n+1$ (partie des noyers adultes ayant le même âge que le tronc des jeunes arbres) est différent de celui observé sur nos jeunes noyers en conteneur. On peut donc considérer que soit la surface foliaire présente sur les charpentières défoliées est suffisante pour maintenir la croissance en diamètre des rameaux de l'année, soit, ce qui paraît plus vraisemblable, la charpentière bénéficie de l'apport de carbone des autres parties de l'arbre (réserves plus importante que dans un arbre de 3 ans) et d'un statut hydrique favorable à la croissance. En effet, Daudet *et al* (2005) ont montré qu'une mobilisation des réserves à longue distance (provenant des racines) était possible pour alimenter la croissance radiale des rameaux. Il aurait été intéressant de regarder si les traitements avaient un impact sur la croissance en longueur. Ensuite, la production de surface foliaire en réponse à la défoliation est une réponse classique (Wargo, 1981 ; *chapitre III.A*) que nous avons pu reproduire sur arbres adultes. Notre expérience confirme une origine locale de ce contrôle. En effet, ce résultat s'observe uniquement sur les rameaux traités. Les autres parties de l'arbre ne sont pas touchées. Les effets du traitement annélation, c'est-à-dire l'arrêt brutal de la croissance en diamètre de la partie du rameau d'âge $n+1$ située en amont (côté tronc) de la décortication corticale et une croissance en diamètre non modifiée en aval (côté feuilles) de la décortication, se retrouvent chez le jeune noyer en conteneur et chez l'arbre adulte en plein champ. Il semble, par ailleurs, peu vraisemblable que le carbone nécessaire à la croissance en diamètre de la partie située avant la zone annelée ait pu être importé des autres branches de l'arbre (pas de croissance de la partie située avant l'annélation). On peut également envisager que les signaux de l'apex étant stoppés par l'anneau de décortication, la mobilisation des réserves demandée par l'apex ne se fassent pas. Enfin, l'augmentation de la surface foliaire des rameaux de la charpentière annelée n'est pas reproduite sur les arbres adultes en verger. Il semble que l'existence de nombreuses zones d'ombre au sein de la couronne des arbres adultes et les modifications physiologiques internes des feuilles (Lichtenthalera *et al*, 2007) soient suffisantes pour ne pas induire une augmentation de la surface foliaire.

Entre les noyers adultes en verger et ceux en conteneur, il existe donc quelques différences d'adaptation : au niveau de la croissance en diamètre des rameaux d'âge $n+1$ pour une défoliation précoce et de la surface foliaire pour le traitement annélation. Ces différences sont très probablement dues au fait que les traitements en verger sont réalisés sur le même arbre.

Nos résultats montrent également que la résistance au gel des rameaux des différentes charpentières de l'arbre peut varier indépendamment en fonction des conditions de croissance des différentes parties (ex. le traitement annélation améliore la résistance au gel automnal, alors que la défoliation réduit l'endurcissement au gel). Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus sur de jeunes arbres en conteneur et permettent donc de généraliser l'effet des traitements étudiés (annélation et défoliation) sur la résistance au gel pour le rameau d'un an. On note cependant des différences dans l'évolution des glucides au cours de l'hiver (que l'on peut probablement assimiler à la respiration d'entretien). Contrairement aux arbres en conteneur où les pertes en GFSA ne sont pas significatives, les pertes en GFSA automno-hivernales des rameaux des arbres adultes en verger existent. Cette différence entre les deux types d'arbres s'expliquerait par le fait que les arbres en conteneur sont placés dès l'automne dans une serre hors-gel (seules les températures inférieures à 0°C sont supprimées, les basses températures sont conservées), ce qui les protège des dommages liés aux températures gélives (inférieures à 0°C). La diminution de la teneur en glucides (amidon et sucres solubles) à la suite d'une défoliation se vérifie sur les rameaux des arbres adultes en plein champ tout comme le traitement annélation qui augmente les teneurs en amidon et en sucres solubles dans les rameaux de l'année de la charpentièrè traitée. La relation entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles et en amidon est, quant à elle, significative pour les deux types d'arbres (en conteneur et en plein champ).

On peut donc affirmer qu'au niveau du rameau les effets sur la résistance au gel, sur les teneurs en glucides et les relations observées chez le jeune arbre en conteneur sont vérifiés en grande partie chez l'arbre adulte en verger.

Autonomie des branches au sein de l'arbre

L'application de plusieurs traitements sur un même arbre peut être discutable et on peut se demander si des transferts, possibles entre les charpentières au sein de l'arbre, n'auraient pas minimisés les impacts négatifs des traitements.

Chez *Betula pubescens*, Henriksson (2001) compare l'effet d'un ombrage individuel des branches, avec celui de l'arbre entier, sur la croissance, la survie et la reproduction. Il montre qu'une seule branche stressée sur un arbre peut être isolée des autres. Nos résultats sont en accord avec ces propos. En effet, les rameaux de chaque charpentière présente une résistance au gel variable selon le traitement et des teneurs en glucides également différentes selon les conditionnements. De nombreux travaux dans le même sens, on conduit à proposer le concept d'autonomie trophique des branches au sein de la couronne (Sprugel *et al*, 1991 ; Brisson, 2001 ; Lacointe *et al*, 2004). Les travaux de Honkanen et Haukioja (1994) relativisent cette autonomie. Ces auteurs montrent au contraire que l'application d'un stress sur des branches isolées pourrait avoir des conséquences plus graves à plus long terme sur le niveau de croissance et de survie de l'arbre que l'application d'un stress sur la totalité de l'arbre.

Dans notre expérience, la charpentière défoliée présente une croissance en diamètre maintenu pour une surface foliaire fortement réduite durant tout le traitement (*figure IV.1*). Par conséquent, on peut considérer que les produits de la photosynthèse courante, probablement limités par le traitement, ne devraient pas suffire à la croissance de cette charpentière (chapitre III.A). L'arbre mobilise vraisemblablement des réserves racinaires (Daudet *et al*, 2006) pour alimenter la croissance radiale de la charpentière défoliée. De plus, son statut hydrique est plus élevé au début de l'automne que celui de la charpentière témoin ($H_{pT} = 1,2 \text{ g.g}^{-1}$, $H_{pDI} = 1,4 \text{ g.g}^{-1}$, $P < 0,0001$), probablement lié à la réduction de la transpiration du fait de la défoliation. Ces faits pourraient expliquer la croissance plus vigoureuse pour la charpentière défoliée (mobilisation du carbone et meilleur statut hydrique) par rapport au témoin. Lacointe *et al* (2004) ont testé cette théorie d'autonomie des branches dans l'arbre. Leurs travaux se sont focalisés sur les possibles mouvements d'assimilats entre les différentes branches (une branche en plein soleil et une branche ombragée). Il montre qu'en été de faibles mouvements de carbone peuvent être détectés entre les branches (moins de 1% de l'assimilation nette diurne de la branche), prouvant la quasi-autonomie des branches durant cette période de l'année. En hiver, ces importations sont beaucoup plus importantes et représenteraient 10% des réserves totales de la branche. L'autonomie des branches serait donc remise en question durant cette période hivernale.

Les résultats présentés dans ce chapitre nous ont permis de généraliser notre approche de l'impact des conditions de culture estivales sur la résistance au gel et les teneurs en glucides (GFS et amidon) pour le rameau d'un an de noyers adultes. La forte liaison entre le niveau de résistance au gel et la teneur en sucres solubles se vérifie et permet d'expliquer le niveau de résistance au gel dans les rameaux de l'année.

Notre protocole expérimental, un peu particulier (trois traitements simultanés sur le même arbre), nous a également permis d'apporter quelques preuves complémentaires de l'autonomie des branches au sein de l'arbre (résistance au gel et teneur en glucides (GFSA) distinctes entre les rameaux de l'année de charpentières différentes).

Conclusion Générale et Perspectives



Les concepts et les méthodes utilisés dans cette étude ont permis de compléter nos connaissances sur l'endurcissement au gel des arbres et du noyer en particulier.

Plusieurs points se dégagent de nos résultats tout en ouvrant de nouvelles perspectives pour continuer ce travail.

Tout d'abord, l'adaptation du test de fuite des électrolytes aux échantillons de noyer nous a permis de mesurer la résistance au gel des différents organes d'un arbre et de suivre cette résistance au cours du temps (**chapitre I**). Notre travail a montré la nécessité d'estimer la température où 50% des cellules sont lysées par le gel (LT_{50}) à partir d'une méthode de calcul proche de celle définie par Sutinen *et al* (1992). En effet, la méthode classique de détermination de Zhang et Willison (1987) surestime la résistance au gel des échantillons. Pour améliorer et faciliter la détermination du LT_{50} , nous conseillons donc l'utilisation d'une température très basse ($<-60^{\circ}\text{C}$) pour obtenir avec précision le plateau de lyse cellulaire maximale. Cette mise au point méthodologique nous a permis de mieux comprendre les sources d'erreur de la méthode de fuite des électrolytes. Ainsi, il a pu être établi que la lyse cellulaire estimée par cette méthode a principalement trois origines :

- la préparation des échantillons (la découpe),
- la température (le gel),
- l'autoclavage.

Le pourcentage de lyse cellulaire lié à l'autoclavage peut chez certains espèces représenter plus de 50% de la lyse totale et dans ces conditions rendre particulièrement important la détermination du plateau de lyse maximale liée à la température.

Nous avons alors appliqué cette méthode améliorée pour suivre la dynamique saisonnière de la résistance au gel sur des noyers témoins et défoliés. Nous avons observé une différence significative de résistance au gel entre les deux traitements qui s'installe au cours du temps pendant l'endurcissement au froid et qui s'estompe durant la phase de désendurcissement. La valeur minimale de résistance au gel est rencontrée vers la fin du mois d'octobre et à cette date, les deux traitements ne sont pas discriminés. A la fin du mois de janvier, la valeur maximale du LT_{50} est observée et à ce moment, les deux types d'arbres (défolié et témoin) ont une sensibilité au gel significativement différente.

Ainsi, nous avons pu comparer cette méthode améliorée par rapport à d'autres méthodes indépendantes (GélistaTM, microscopie optique, test sur plantes entières) pour deux traitements (défoliation et témoin) et pour les deux périodes décrites précédemment.

Toutes les méthodes donnent des estimations qui vont dans le même sens avec une estimation plus forte de la résistance au gel pour les arbres témoins par rapport aux arbres défoliés. Néanmoins, seule la méthode de fuite des électrolytes et la méthode GélitaTM sont des méthodes quantifiables. Elles ne sont toutefois pas totalement comparables, puisque GélitaTM donne une valeur de LT₅₀ pour les tissus de l'écorce, alors que la fuite des électrolytes a été mesurée sur l'ensemble d'un segment de rameau (écorce + bois). Nous avons donc, par la suite, utilisé uniquement la méthode de fuite des électrolytes pour déterminer le LT₅₀ des différents organes. La différence significative de résistance au gel hivernale entre les traitements témoins et défoliés indique qu'au moins un autre processus indépendant de la température est impliqué dans l'endurcissement au gel.

Nous avons, ainsi, étudié les corrélations entre le LT₅₀ et des variables physiologiques (teneur en sucres solubles et humidité pondérale) et climatiques (température minimale de l'air). L'étude réalisée sur deux lieux au climat contrasté (plaine et semi-montagnard) et pour deux variétés (**chapitre II**) nous a permis de proposer un modèle pour simuler l'évolution de la résistance au froid.

Nous avons également mesuré une différence significative dans la date de débourrement entre les deux sites : elle est plus tardive sur le site le plus froid. Ces différences semblent être liées au radoucissement des températures de l'air et à l'augmentation de l'humidité pondérale dans les rameaux qui a lieu plus tôt sur le site le plus chaud (Crouelle). Elles coïncident également avec la perte de résistance au gel au débourrement. Il nous semble donc important, dans le futur, de mettre l'accent sur la prévision des dates de débourrement pour cibler les risques de gel au printemps et de coupler cette prévision au modèle d'endurcissement que nous avons développé.

Les résultats obtenus chez le noyer concernant l'endurcissement des rameaux nous permettent de confirmer l'hypothèse de la forte corrélation avec le statut carboné de ces rameaux. L'analyse des corrélations entre le LT₅₀ et certaines variables mesurées (teneur en GFS, humidité pondérale et la moyenne des températures minimales journalières sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement) confirme l'existence d'un lien fort. Par ailleurs, nous avons montré pour l'hybride que l'âge (pour des stades assez juvéniles) et la précocité de débourrement des arbres n'ont pas d'effet significatif sur les relations étudiées. Nous avons ensuite proposé un modèle simple de résistance au gel. Son analyse statistique indique de bons indices de conformité et des RMSE satisfaisants. Le modèle prend en compte une

variable climatique (la moyenne des températures minimales journalières sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement), deux variables physiologiques (l'humidité pondérale et la teneur en sucres solubles) et la variété. L'histoire environnementale des arbres dans la prédiction de la résistance au gel est prise en compte par la moyenne des températures minimales journalières sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement. De plus, grâce à la teneur en sucres solubles (GFS), nous prenons en compte les effets des stress subis par la plante durant la période estivale de croissance, contrairement au modèle de Leinonen (1995). Ce modèle a été validé sur plusieurs années.

Il devrait permettre de mieux paramétrer la résistance au froid des arbres et ainsi d'améliorer les modèles de prédiction des aires de répartition (ex : PHENOFIT) qui incluent la résistance au froid comme variable. C'est une perspective qui serait particulièrement intéressante à développer dans un futur travail.

Les perspectives de développement de ce modèle portent essentiellement sur la transformation des variables physiologiques en variables climatiques équivalentes. Ainsi, le modèle final pourrait être constitué de plusieurs sous-modèles où l'humidité pondérale serait déterminée à partir de l'évapotranspiration potentielle (ETP) et du blocage de l'absorption hydrique en fonction de la température du sol (Améglio *et al*, 1990, 2002) qui pourrait elle-même être déduite de la température de l'air (Langholz, 1989). A l'heure actuelle, il n'existe pas de modèle pouvant prédire l'humidité pondérale. Il serait donc important de le développer.

Pour le sous-modèle d'évolution des sucres solubles, on partirait de la teneur en amidon à l'automne en utilisant une loi d'action basée sur la vitesse de dégradation ou de resynthèse de l'amidon en fonction de la température de l'air ; on pourrait ainsi, à chaque instant, estimer la teneur en sucres solubles dans l'arbre en fonction des données climatiques. Comme pour l'humidité pondérale, ce modèle est à construire, mais de nombreux travaux, en particulier ceux de Sauter (Sauter, 1966, 1967, 1988ab), devraient nous guider sur le type de loi d'action à modéliser.

Par ailleurs, il faudrait généraliser le modèle à d'autres variétés de noyer, puis à d'autres espèces car pour l'instant, il n'a été paramétré que sur deux variétés de noyer (Franquette et NG38).

Nous avons donc testé cette corrélation (LT_{50} vs. teneur en sucres solubles) pour différents traitements estivaux touchant le statut carboné de l'arbre et pour les différents organes de l'arbre (**chapitre III**). Ainsi, dans un premier temps, l'analyse du développement

estivale du noyer a montré que le moment d'application des traitements est primordial sur la capacité des arbres à s'adapter morphologiquement aux contraintes de leur environnement et *in fine* sur leurs statuts glucidiques. L'adaptation aux contraintes est plus forte en début de saison estivale de croissance. Cette capacité diminue ensuite progressivement jusqu'à la fin de l'été. De plus, les réactions adaptatives des arbres sont différentes selon les traitements (une émission continue de feuilles pour une défoliation précoce, une augmentation de surface de la feuille pour un ombrage précoce ou un enroulement du feuillage pour le traitement annélation). Puis, dans un second temps, nous avons montré que la répartition de la biomasse structurale, mais également la mise en réserves et l'utilisation des glucides, pouvaient être modifiées entre les différents compartiments de l'arbre selon les traitements (**chapitre III.A**).

La variation des teneurs en glucides, induite par ces conditionnements, provoque une modification de la résistance au gel. La diminution de la teneur en sucres solubles dans les différents organes de l'arbre, provoquée par les stress, entraîne une diminution de la résistance au gel dans l'organe considéré. Cette diminution de la résistance au gel est beaucoup plus visible sur les compartiments aériens de l'arbre qui présentent un durcissement au gel important. La relation réciproque est également vérifiée : l'augmentation des teneurs en sucres solubles, à la suite d'un stress, provoque une augmentation du niveau de résistance au gel de l'organe. La liaison entre la résistance au gel et la teneur en sucres solubles est ainsi vérifiée pour tous les traitements. En revanche, elle est très différente selon qu'on considère des organes aériens ou souterrains (**chapitre III.B**).

Il serait intéressant de connaître les raisons de cette disparité, ce qui permettrait de réduire et d'anticiper les risques encourus par les plantes quand le sol gèle. Néanmoins, les risques de températures très basses sont limités et l'on peut penser que les mécanismes de résistance au gel ne sont pas tout à fait identiques entre les organes aériens et souterrains, en particulier l'utilisation des sucres solubles pour la résistance au gel. Une autre hypothèse serait la grande proportion de cellules vivantes (*cf.* Synthèse bibliographique) qui compose un organe souterrain par rapport à un organe aérien. Dans ce cas, la forte proportion de cellules vivantes pourrait entraîner un manque de place dans le milieu extracellulaire pour accueillir l'eau du milieu intracellulaire lors du gel. Cette piste serait à vérifier et à quantifier dans une future étude. Enfin, la variation automno-hivernale de l'humidité pondérale des organes souterrains serait moins importante que celle des organes aériens. Cette différence de l'humidité pondérale pourrait expliquer la différence d'endurcissement observée entre les organes aériens et souterrains. Des résultats préliminaires (non décrits dans ce manuscrit) semblent confirmer cette hypothèse.

Nous avons enfin réitéré le traitement annélation et défoliation sur les différentes charpentières d'un même noyer adulte en verger. L'étude du développement aérien des différentes charpentières traitées indique que des transferts à l'intérieur de l'arbre ont probablement atténué les effets du traitement défoliation sur la croissance en diamètre des rameaux d'âge $n+1$. Nous avons néanmoins retrouvé l'impact sur la production de feuilles induite par le traitement défoliation. Pour le conditionnement annélation, seuls les effets sur la croissance en diamètre sont reproduits sur les noyers adultes. L'analyse de la résistance au gel des rameaux d'un an ainsi traités confirme les résultats obtenus sur jeunes arbres. Ainsi, le traitement annélation augmente la résistance au gel, alors qu'une défoliation la réduit. La relation entre la teneur en sucres solubles et le LT_{50} également observée sur les arbres adultes montre la pertinence des mesures de glucides dans la détermination de la résistance au froid.

Cette expérience a débouché également sur de nouveaux arguments en faveur de la théorie de l'autonomie des branches pour le carbone au sein de l'arbre. En effet, nous avons pu faire varier, grâce à l'application localisée de traitements, la résistance au gel et les teneurs en glucides (sucres solubles et amidon) des rameaux d'un an des différentes charpentières (**chapitre IV**).

Dans la littérature, on trouve peu de travaux de recherche concernant la phase de désendurcissement. Mieux comprendre ce processus permettrait d'enrichir nos connaissances sur les capacités des arbres à résister aux gels de printemps. On pourrait notamment étudier en détail la dynamique des glucides et/ou les variations de l'humidité pondérale durant cette courte période (relevés hebdomadaires ou journaliers) tout en induisant des phases d'endurcissement et en faisant varier très progressivement la température de l'air pour permettre les modifications du métabolisme cellulaire.

Il nous reste enfin à tester si les résultats obtenus sur le noyer peuvent être étendus à d'autres espèces d'arbres à feuilles caduques, voire aux conifères.

Nous avons tenté de vérifier ces relations sur deux autres espèces (le hêtre et l'érable) au niveau du rameau de l'année en appliquant des conditionnements (ombrage et défoliation) de durée variable. Les résultats (non présentés dans ce manuscrit) n'ont pas permis chez le hêtre de distinguer de différence significative de résistance au gel entre les arbres traités et les témoins, montrant que le rameau d'un an n'était peut-être pas le meilleur indicateur de résistance au gel chez le hêtre. Chez l'érable, en hiver, des différences significatives apparaissent entre traitements. Mais nous n'avons pas pu suivre

l'endurcissement automno-hivernal car la résistance au gel des rameaux à l'automne n'a pu être déterminée (matériel végétal restreint).

Pour conclure, nos résultats montrent que la survie des arbres en hiver dépend des stress qui peuvent intervenir dans la vie de l'arbre sur plusieurs périodes successives de croissance, mais également de repos apparent. Ainsi, les individus déjà affaiblis par des contraintes passées seront plus vulnérables durant l'hiver suivant (lyse cellulaire, embolie hivernale). Ces individus auront, par conséquent, plus de difficultés à connaître un débourrement et une croissance optimale le printemps et l'été suivants (Cox et Zhu, 2003). L'anticipation des dépérissements de nos forêts, par le développement de modèles fiables de prédiction, reste donc un enjeu important pour nos recherches futures. Notre étude montre que la fiabilité de ces modèles reposera en partie sur nos capacités à considérer la succession de contraintes subies par l'arbre sur l'ensemble du cycle annuel et surtout sur nos capacités à modéliser les interactions entre ces contraintes au cours du temps.

Annexes



Annexe A1 : Solutions et enzymes utilisées pour les dosages enzymatiques des glucides

Solutions

Extraction des glucides

Ethanol

Ethanol à 80%

- Pour 1 litre : 800 ml d'éthanol à 99% + 200 ml d'eau ultra pure (milliQ185).

Ethanol à 80% + mannitol (1 g.l^{-1})

- Pour 1 litre : 1 g de mannitol dans 1 litre d'éthanol à 80%.

Ethanol à 50%

- Pour 1 litre : 500 ml d'éthanol à 99% + 500 ml d'eau ultrapure.

Soude

NaOH à 5 N

- 200 g de NaOH + 1 litre d'eau ultrapure.

A cette teneur, la soude se conserve plusieurs mois.

NaOH à 0,02 N

- 200 μl de NaOH à 5 N + 50 ml d'eau ultrapure.

Solution de NADP à 11,5 mM

100 mg de NADP + 10 ml d'eau ultrapure.

Cette solution est stable 4 semaines à 4°C.

Solution d'ATP à 40,5 M

250 mg d'ATP + 250 mg de NaHCO_3 + 10 ml d'eau ultrapure.

Cette solution est stable 4 semaines à 4°C.

Cartouche de filtration

Charbon

Sous la hotte

250 ml de charbon (Darco G60, Fluka) + 700 ml d'éthanol à 80%.

Agiter, laisser reposer 1 h et éliminer le surnagent.

700 ml d'éthanol à 80%.

Agiter, laisser reposer 1 h et éliminer le surnagent. } 2 fois

Ajouter le même volume d'éthanol que de charbon.

PVPP (PolyVinylPolyPyrrolidone)

Sous la hotte

250 ml de PVPP (Sigma) + 700 ml eau ultrapure.

Agiter, laisser reposer 1 h et éliminer le surnagent.

700 ml d'eau ultrapure.

Agiter, laisser reposer 1 h et éliminer le surnagent. } 2 fois

Ajouter le même volume d'eau ultrapure que de PVPP.

Résine AG[®] 1X8

53 g de Na₂CO₃ dans 500 ml d'eau ultrapure (solution de carbonate).

4 grosses spatules de résine dans 500 ml de solution de carbonate.

Agiter 2 h, laisser reposer plusieurs heures et aspirer le surnageant.

Ajouter 800 ml d'eau ultrapure.

Laisser reposer 1h, puis aspirer le surnageant. } 3 fois

Rincer la résine à l'eau ultrapure jusqu'à ce que le pH soit entre 6,5 et 7.

Laisser reposer puis compléter avec de l'eau ultrapure pour avoir le même volume que la résine.

Conserver à 4°C.

Tampon pour dosage amidon

Tampon citrate 0,32 M, pH 4,2

Dissoudre 4,25 g d'acide citrique (Prolabo, Normapur) et 3,45 g de Tri-Sodium Citrate (Prolabo, Normapur) dans 80 ml d'eau ultrapure.

Ajuster le pH à 4,2 avec de la soude 5N.

Compléter à 100 ml avec de l'eau ultrapure.

Ce tampon est stable 1 an à 4°C.

Tampon triéthanolamine

Dissoudre 14 g de triéthanolamine (Acros organics) + 0,25 g sulfate de magnésium (SO₄Mg, H₂O, Prolabo) dans 80 ml d'eau ultrapure.

Ajuster le pH à 7,6 avec du NaOH à 5N.

Compléter à 100 ml avec de l'eau ultrapure.

Ce tampon est stable 4 semaines à 4°C.

« Tampon réactionnel » pour le dosage de l'amidon

Quantité pour un puit (un échantillon) :

- 60 µl de tampon triéthanolamine
- 96 µl d'eau ultrapure
- 12 µl de NADP
- 12 µl d'ATP

Enzymes

Hydrolyse de l'amidon

Amyloglucosidase (endo- et exo-enzymes)

25mg d'amyloglucosidase (750U)

5ml de tampon citrate pH 4,2

Ne se conserve pas

Dosage de l'amidon

Hexokinase-Glucose-6-phosphate déshydrogénase (HK-G6PdH)

42µl d'Hexokinase (30000U/ml)

180µl de Glucose-6-phosphate déshydrogénase (10000U/3ml)

Tampon Sulfate d'Ammonium qsp 3ml

Ce mélange enzymatique est stable pendant 1 an à 4°C

Annexe A2 : Programmes de gel/dégel des 'Freeze-box'

Programme n° 1

Le programme n°1 est appliqué aux échantillons destinés aux deux tests de résistance au gel.

Freeze-Box n°1

Année	Saison	Palier 1		Descente		Palier 2		Remontée		Palier 3	
		T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps
2004- 2005	Automne	+5	1h	-5	2h	-5	1h	+5	2h	+5	∞
	Hiver	+5	1h	-10	3h	-10	1h	+5	3h	+5	∞
2005- 2006	Automne	+5	1h	-5	2h	-5	1h	+5	2h	+5	∞
	Hiver	+5	1h	-10	3h	-10	1h	+5	3h	+5	∞
	Printemps	+5	1h	-5	2h	-5	1h	+5	2h	+5	∞

Le symbole ∞ signifie que la température est maintenue jusqu'au lendemain matin.

Freeze-Box n°2

Année	Saison	Palier 1		Descente		Palier 2		Remontée		Palier 3	
		T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps
2004- 2005	Automne	+5	1h	-10	3h	-10	1h	+5	3h	+5	∞
	Hiver	+5	1h	-20	5h	-20	1h	+5	5h	+5	∞
2005- 2006	Automne	+5	1h	-10	3h	-10	1h	+5	3h	+5	∞
	Hiver	+5	1h	-20	5h	-20	1h	+5	5h	+5	∞
	Printemps	+5	1h	-10	3h	-10	1h	+5	3h	+5	∞

Le symbole ∞ signifie que la température est maintenue jusqu'au lendemain matin.

Freeze-Box n°3

Année	Saison	Palier 1		Descente		Palier 2		Remontée		Palier 3	
		T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps
2004- 2005	Automne	+5	1h	-15	4h	-15	1h	+5	4h	+5	∞
	Hiver	+5	1h	-30	7h	-30	1h	+5	7h	+5	∞
2005- 2006	Automne	+5	1h	-15	4h	-15	1h	+5	4h	+5	∞
	Hiver	+5	1h	-30	7h	-30	1h	+5	7h	+5	∞
	Printemps	+5	1h	-20	4h	-15	1h	+5	4h	+5	∞

Le symbole ∞ signifie que la température est maintenue jusqu'au lendemain matin.

Programme n° 2

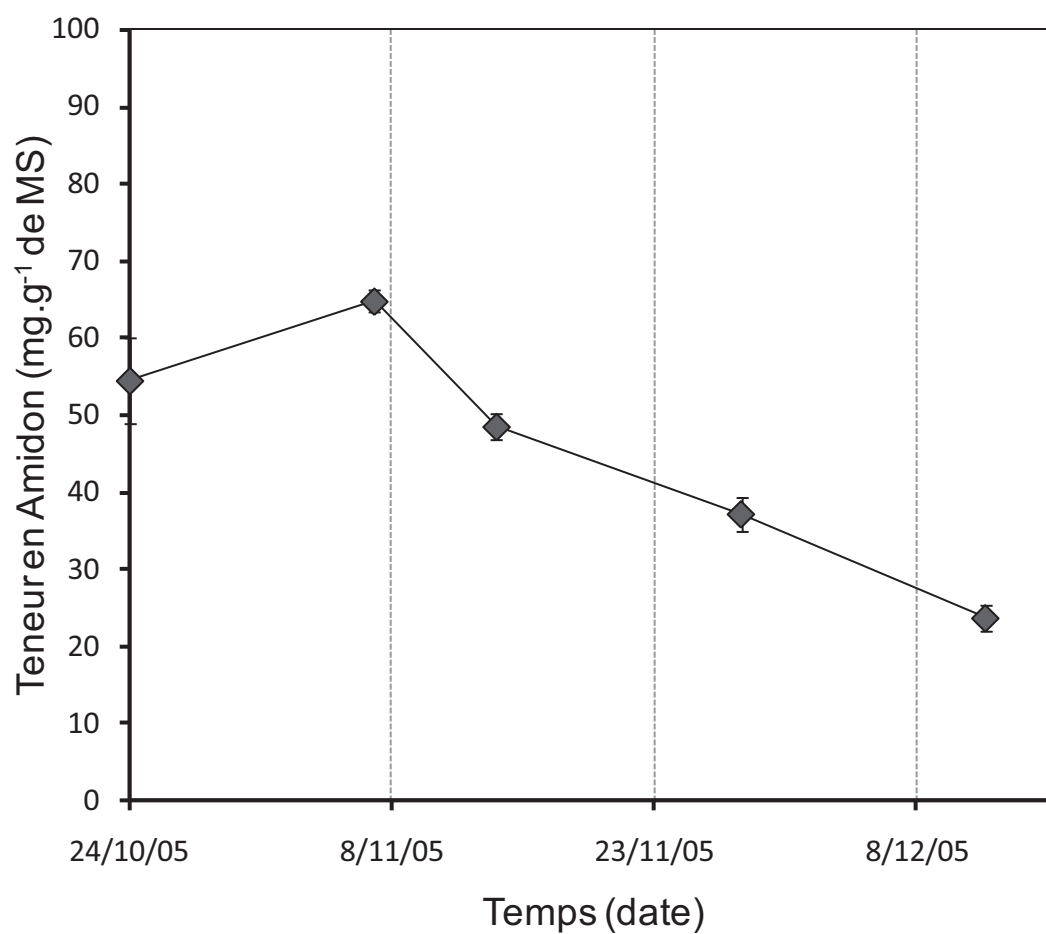
Le programme n° 2 n'est destiné qu'aux échantillons du test Gélita™. Il est mis en route dès que les échantillons affectés au test LT50 sont sortis des chambres de conditionnements.

Année	Saison	Palier 1		Remontée		Palier 2		Descente		Palier 3	
		T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps	T °C	Temps
2004-2005	Automne	+5	1h	+60	1h	+60	1h	-20	2h	-20	1h
	Hiver	+5	1h	+60	1h	+60	1h	-20	2h	-20	1h
	Saison	Remontée		Palier 4							
		T °C	Temps	T °C	Temps						
	Automne	+5	1h	+5	∞						
	Hiver	+5	1h	+5	∞						
2005-2006	Automne	Répétition en boucle du programme n° 1									
	Hiver										
	Printemps										

Le symbole ∞ signifie que la température est maintenue jusqu'au lendemain matin.

Annexe A3 : Expérimentations complémentaires

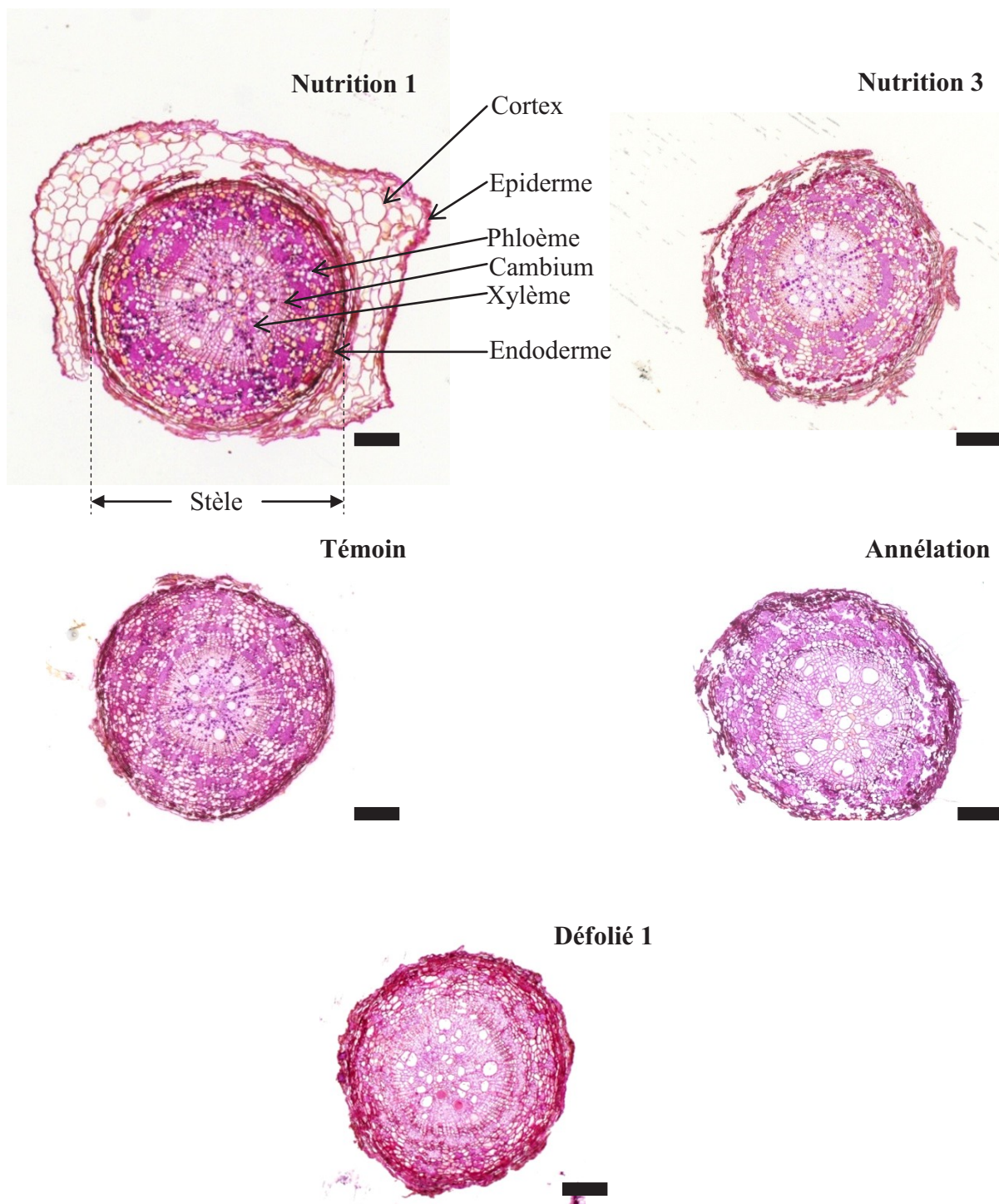
Essais de suivi de l'évolution des teneurs en amidon d'un rameau de l'année de jeunes noyers âgés de 3 ans en conteneur conditionné à température constante (+5°C) durant plusieurs semaines (n = 3).



Annexe A4 : Microscopie optique : exemple de photos de pivot et de racines fines.

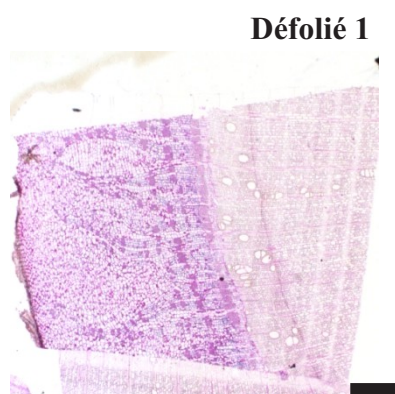
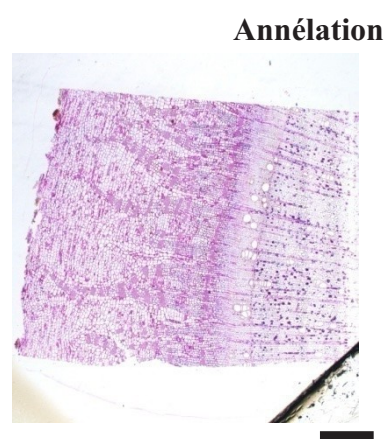
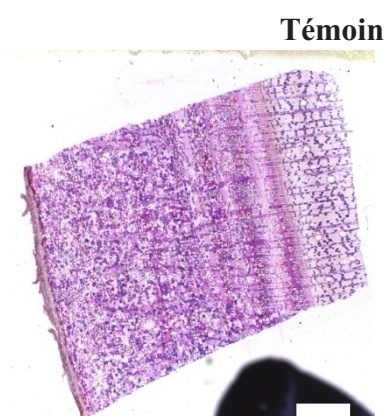
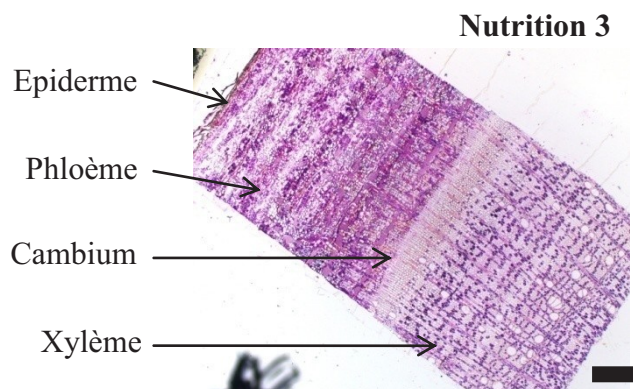
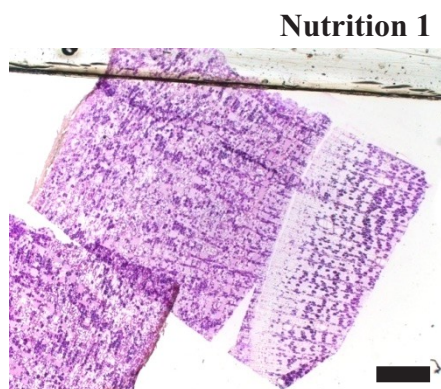
Racines fines :

Observation au microscope optique de la structure cellulaire des racines fines de 2005 suite à l'application de conditionnements estivaux variés (x25). La barre horizontale représente 200 μm .



Pivot :

Observation au microscope optique de la structure cellulaire des pivots de 2005 suite à l'application de conditionnements estivaux variés. La barre horizontale représente 500 μm .



Annexe A5 : Articles publiés durant la thèse

Publications :

Dans des périodiques à comité de lecture :

COCHARD, H., DAMOUR, G., BODET, C., THARWAT, I., POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2005). Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum*, **124 (4)**, 410-418

Dans des périodiques sans comité de lecture :

POIRIER, M., BODET, C., PLOQUIN, S., SAINT-JOANIS, B., LACOINTE, A., and AMEGLIO, T. (2006). Walnut cultivar performance of cold resistance in south-central France. *Acta Horticulturae*, (No 705), 281-285

AMEGLIO, T., ALVES, G., DECOURTEIX, M., POIRIER, M., GUILLIOT, A., SAKR, S., BRUNEL, N., PETEL, G., RAGEAU, R., COCHARD, H., JULIEN, J.L., LACOINTE, A. (2006). Winter biology in walnut tree: freezing tolerance by cold acclimation and embolism repair. *Acta Horticulturae*, (No 705), 241-249

POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2006). Impact of summer conditions of growth (drought, defoliation...) on freezing tolerance of trees. *Cryobiology*, **53 (3)**, Page 425

Projets de publication :

POIRIER, M., CHARRIER, G., BRUNEL, N., BODET, C., PLOQUIN, S., SERRE, C., PIGEON, D., and AMEGLIO, T. Evaluation of Freezing Injury and Cold Hardiness in Walnut (*Juglans regia* L.): Methods comparisons and Electrolyte Leakage Test Adaptation. (soumis à Tree Physiology)

POIRIER, M., LACOINTE, A., and AMEGLIO, T. Seasonal differences in freezing stress resistance of walnut tree: role of temperatures and soluble carbohydrate reserves in the prediction of cold hardiness. (en préparation)

POIRIER, M. and AMEGLIO, T. Impact of contrasted summer conditions of growth (defoliation, shade, drought, nitrogen deficiency, girdling) on the walnut tree development and carbon partitioning between different walnut organs. (en préparation)

Annexe A6 : Liste des posters, congrès et séminaires réalisés durant la thèse

Communications orales :

POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2006). Etude écophysiological de l'endurcissement au gel des arbres : Impact des conditions estivales de croissance (sécheresse, défoliation, nutrition minérale...) sur la résistance au gel des arbres. Journées de l'Ecologie Fonctionnelle, JEF 2006, Nouan-le-Fuzelier, 6-9/03/2006.

POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2006). Etude écophysiological de l'endurcissement au gel des arbres : Impact des conditions estivales de croissance (sécheresse, défoliation, nutrition minérale...) sur la résistance au gel des arbres. Forum des Jeunes Chercheurs en physiologie végétale, Clermont-Ferrand, 5-6/09/2006.

POIRIER, M. (2006). Etude écophysiological de l'endurcissement au gel des arbres. Séminaire dans le cadre de la réunion des correspondants du Département de la Santé des Forêts du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Marmilhat, 08/01/2006.

Posters Scientifiques:

POIRIER, M., BODET, C., PLOQUIN, S., VANDAME, M., CHALEIL, P., AMEGLIO, T. (2004). Impact of summer conditions of growth (drought, defoliation, shade) on freezing tolerance of trees. Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests. Freiburg (Allemagne), 17-19/11/2004.

POIRIER, M., BODET, C., PLOQUIN, S., VANDAME, M., CHALEIL, P., AMEGLIO, T. (2005). Impact of summer conditions of growth (drought, defoliation, shade) on freezing tolerance of trees. Journées de l'école Doctorale 2005. Clermont-Ferrand (France). 7-8/04/2005

POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2006). Impact of summer conditions of growth (drought, defoliation...) on freezing tolerance of trees. CRYO 2006, 43rd Meeting of the Society for Cryobiology in association with the Society for Low Temperature Biology. Hamburg (Allemagne), 24-27/07/2006.

Posters de vulgarisation:

POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2006). Les arbres plus sensibles au froid après une sécheresse? Poster aux Journées Portes Ouvertes 2006. INRA centre de Clermont-Theix. http://www.clermont.inra.fr/content/download/1870/26161/file/piaf_posters.pdf

POIRIER, M., AMEGLIO, T. (2006) - Les Méthodes d'étude de la résistance au gel des arbres. Poster aux Journées Portes Ouvertes 2006. INRA centre de Clermont-Theix. http://www.clermont.inra.fr/content/download/1870/26161/file/piaf_posters.pdf

Références Bibliographiques



A

Abebe, T., Guenzi, A.C., Martin, B., and Cushman, J.C. (2003). Tolerance of Mannitol-Accumulating Transgenic Wheat to Water Stress and Salinity. *Plant Physiology* **131**, 1748-1755

Almeida, M.H., Chaves, M.M., and Silva, J.C. (1994). Cold acclimation in eucalypt hybrids. *Tree Physiology* **14**, 921-932

Alves, G., Sauter, J.J., Julien, J.L., Fleurat-Lessard, P., Améglio, T., Guilliot, A., Pétel, G., and Lacoïnte, A. (2001). Plasma membrane H⁺-ATPase, succinate and isocitrate dehydrogenases activities of vessel-associated cells in walnut trees. *Journal of Plant Physiology* **158**, 1263-1271

Alves, G., Améglio, T., Guilliot, A., Fleurat-Lessard, P., Lacoïnte, A., Pétel, G., Julien, J.L., (2004). Winter variation of xylem sap pH in walnut tree: implication of the plasma membrane H⁺-ATPase of vessel-associated cells. *Tree Physiology* **24** (1), 99-105.

Alves, G., Decourteix, M., Fleurat-Lessard, P., Sakr, S., Bonhomme, M., Améglio, T., Lacoïnte, A., Julien, J.L., Pétel, G., Guilliot, A., (2007). Spatial activity and expression of plasma membrane H⁺-ATPase in xylem of walnut tree, during dormancy and growth resumption. *Tree Physiology* **27** (10), 1471-1480

Améglio, T. (1991). Relations hydriques chez le jeune noyer, de l'échelle de la journée à celle de l'année, en liaison avec quelques aspects de la physiologie de l'arbre (Thèse, Clermont-Ferrand: Université de Clermont II), pp. 99

Améglio, T., and Cruiziat, P. (1992). Alternance tension/pression de la sève dans le xylème chez le noyer pendant l'hiver. Rôle des températures. *Compte Rendu Académique Scientifiques. Paris, Série III : Sciences et Vie* **315**, 429-435

Améglio, T., Cruiziat, P., and Béraud, S. (1995). Alternance tension/pression de la sève dans le xylème chez le noyer pendant l'hiver. Conséquences sur la conductance hydraulique des rameaux. *Compte Rendu Académique Scientifiques. Paris, Série III : Sciences et Vie* **318**, 351-357

Améglio, T., Alves, G., Bonhomme, M., Cochard, H., Ewers, F., Guilliot, A., Julien, J.L., Lacoïnte, A., Pétel, G., Rageau, R., Sakr, S., and Valentin, V. (2001). Winter functioning of walnut : involvement in branching processes. In *L'arbre 2000 The tree*, M. Labrecque, ed (Montréal), pp. 230-238

Améglio, T., Cochard, H., and Ewers, F.W. (2001a). Stem diameter variations and cold hardiness in walnut trees. *Journal of Experimental Botany* **52**, 2135-2142

Améglio, T., Cochard, H., Ewers, F.W., Lacoïnte, A., Lévêque, A., and Bodet, C. (2001b). Cold hardiness : a new tool for testing acclimation. In *L'Arbre 2000 The Tree.*, L. M., ed (Montréal (Québec): Collection Collectif), pp. 327-330

Améglio, T., Ewers, F.W., Cochard, H., Martignac, M., Vandame, M., Bodet, C., and Cruiziat, P. (2001c). Winter stem xylem pressure in walnut trees : effects of carbohydrates, cooling and freezing. *Tree Physiology* **21**, 387-394

- Améglio, T., Alves, G., Bonhomme, M., Cochard, H., Ewers, F., Guilliot, A., Julien, J.L., Lacoïnte, A., Pétel, G., Rageau, R., Sakr, S., and Valentin, V.** (2001d). Winter functioning of walnut : involvement in branching processes. In *L'arbre 2000 The tree*, M. Labrecque, ed (Montréal), pp. 230-238
- Améglio, T., Cochard, H., Lacoïnte, A., Ewers, F.W., Sauter, J., Martignac, M., Vandame, M., Bodet, C., Cruiziat, P.** (2001e). Adaptation to cold temperature and response to freezing in walnut tree. Ed. E. Germain, *Acta Horticulturae*, **544**, 247-254.
- Améglio, T., Bodet, C., Lacoïnte, A., and Cochard, H.** (2002). Winter embolism, mechanisms of xylem hydraulic conductivity recovery and springtime growth patterns in walnut and peach trees. *Tree Physiology* **22**, 1211-1220
- Améglio, T., Cochard, H., and Ewers, F.W.** (2003). GelistaTM: a new tool for testing frost hardiness by stem diameter variations on walnut. *Acta Horticulturae* N°618, 509-514
- Améglio, T., Decourteix, M., Alves, G., Valentin, V., Sakr, S., Julien, J.L., Pétel, G., Guilliot, A., and Lacoïnte, A.** (2004). Temperature effects on xylem sap osmolarity in walnut trees : evidence for a vitalistic model of winter embolism repair. *Tree Physiology* **24**, 785-793
- Améglio, T., Alves, G., Decourteix, M., Poirier, M., Bonhomme, M., Guilliot, A., Sakr, S., Brunel, N., Pétel, G., Rageau, R., Cochard, H., Julien, J.L., Lacoïnte, A.** (2006). Winter biology in walnut tree : Freezing tolerance by cold acclimation and embolism repair. Ed. M.E. Malvolti, D. Avanzato. *Acta Horticulturae. (ISHS) N°705*, 241-249
- Anderson, J.V., Li, Q.B., Haskell, D.W., and Guy, C.L.** (1994). Structural organization of the spinach endoplasmic reticulum-luminal 70-kilodalton heat-shock cognate gene and expression of 70-kilodalton heat-shock genes during cold acclimation. *Plant Physiology* **104**, 1359-1370
- Anisko, T., and Lindstrom, O.M.** (1995). Applying the Richards Function in Freezing Tolerance Determination with Electrolyte and Phenolic Leakage Techniques. *Physiologia Plantarum* **95**, 281-287
- Anisko, T., Lindstrom, O.M., and Hoogenboom, G.** (1994). Development of a cold hardiness model for deciduous woody plants. *Physiologia Plantarum* **91**, 375-382
- Arora, R., Wiesniewski, M.E., Scorza, R.,** (1992). Cold acclimation in genetically related (Sibling) deciduous and evergreen peach (*Prunus persica* [L.] Batsch) I. Seasonal changes in cold hardiness and polypeptides of bark and xylem tissues. *Plant Physiology* **99**, 1562-1568
- Arris, L.L., and Eagleson, P.S.** (1989). Evidence of a Physiological-Basis for the Boreal-Deciduous Forest Ecotone in North-America. *Vegetatio* **82**, 55-58
- Aschan, G., and Pfanz, H.** (2003). Non-foliar photosynthesis - a strategy of additional carbon acquisition. *Flora* **198**, 81-97

Ashworth, E.N., Stirm, V.E., and Volenec, J.J. (1993a). Seasonal variations in soluble sugars and starch within woody stems of *Cornus sericea* L. *Tree Physiology* **13**, 379-388

Ashworth, E.N., Malone, S.R., and Ristic, Z. (1993b). Response of woody plant cells to dehydrative stress. *International Journal of Plant Sciences* **154**, 90-99

Atkinson, C.J. (1984). Quantum flux density as a factor controlling the rate of growth, carbohydrate partitioning and wood structure of *Betula pubescens* seedlings. *Annals of Botany* **54**, 397-411

Aussenac, G., and Boulangeat, C. (1980). Interception des précipitations et évapotranspiration réelle dans des peuplements de feuillu (*Fagus sylvatica* L.) et de résineux (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco). *Annales des Sciences Forestières* **37**, 91-107

B

Babin, V. (1995). Transport des nutriments dans le tissu xylémien de *Populus x euramericana* I.214. Etude à l'échelle tissulaire et membranaire, pp. 156

Bachelard, E.P., and Wightman, F. (1973). Biochemical and physiological studies on dormancy release in tree buds. I. Changes in degree of dormancy, respiratory capacity, and major cell constituents in overwintering vegetative buds of *Populus balsamifera*. *Canadian Journal of Botany*. **51**, 2315-2326

Barbaroux, C. (2002). Analyse et modélisation des flux de carbone de peuplements forestiers pour la compréhension de la croissance de deux espèces feuillues *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*. (Thèse, Orsay: Université de Paris Sud - Paris XI), pp. 183 + annexes

Barbaroux, C., and Bréda, N. (2002). Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology* **22**, 1201-1210

Barbaroux, C., Bréda, N., and Dufrêne, E. (2003). Distribution of above-ground and below-ground carbohydrate reserves in adult trees of two contrasting broad-leaved species (*Quercus petraea* and *Fagus sylvatica*). *New Phytologist* **157**, 605-615

Baret, F., Guyon, D., and Gu, X.F. (1996). Propriétés optiques des sols et des feuilles. *Actes de l'école de l'INRA. tome 1, « de la plante au couvert végétal »* 285-291

Bartelink, H.H. (1998). A model of dry matter partitioning in trees. *Tree Physiology* **18**, 91-101

Barthélémy, D., Sabatier, S., and Pascal, O. (1995). Le développement architectural du noyer commun *Juglans regia* L. (Juglandaceae). *Forêt Entreprise* 61-68

Bartolozzi, F., and Fontanazza, G. (1999). Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* **81**, 309-319

- Becquey, J.** (1997). Les noyers à bois. (Paris: Institut pour le Développement Forestier), pp 144
- Begg, J.E., and Turner, N.C.** (1970). Water potential gradients in field tobacco. *Plant Physiology* **46**, 343-346
- Belrose, V., Nageleisen, L.M., and Renaud, J.P.** (2004). Bilan de la Santé des Forêts en 2003 : Les conséquences de la canicule et de la sécheresse sur la santé des forêts : bilan à la fin de l'année 2003 (Département de la Santé des Forêts), pp. 17
- Beltrando, G., Lecompte, M., and Sarmir, I.** (1992). Le gel dans le vignoble champenois : itinéraire topoclimatiques pour la mesure de l'infrarouge thermique. *Publication de l'Association Internationale de Climatologie* **5**, 335-342
- Beppu, K., Suehara, T., and Kataoka, I.** (2003). High temperature and drought stress suppress the photosynthesis and carbohydrate accumulation in 'Satohnishiki' sweet cherry. *Acta Horticulturae* 371-377
- Bernacchia, G., and Furini, A.** (2004). Biochemical and molecular responses to water stress in resurrection plants. *Physiologia Plantarum* **121**, 175-181.
- Bialeski, R.L., and Redgwell, R.J.** (1977). Synthesis of sorbitol in apricot leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **4**, 1-10
- Boehringer, S.A.** (1984). Methods of enzymatic food analysis using single reagents, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany, pp. 79
- Bogeat-Triboulot, M.B., Brosché, M., Renaut, J., Jouve, L., Le Thiec, D., Fayyaz, P., Vinocur, B., Witters, E., Laukens, K., Teichmann, T., Altman, A., Hausman, J.F., Polle, A., Kangasjärvi, J., and Dreyer, E.** (2007) Gradual Soil Water Depletion Results in Reversible Changes of Gene Expression, Protein Profiles, Ecophysiology, and Growth Performance in *Populus euphratica*, a Poplar Growing in Arid Regions. *Plant Physiology* **143**, 876-892
- Bolat, I.** (1995) The relationship between frost resistance and seasonal changes in carbohydrate contents in flower buds in apricot (cvs. Salak and Tebereze). *Acta Horticulturae* **No. 384**, 323-328
- Bonicel, A., Haddad, G., and Gagnaire, J.** (1987). Seasonal variations of starch and major soluble sugars in the different organs of young poplars. *Plant Physiology and Biochemistry* **25**, 451-459
- Bonnemain, J.L., and Fromard, L.** (1987). Physiologie comparée des cellules compagnes du phloème et des cellules associées aux vaisseaux. *Bulletin de la Société botanique de France, Actualités botaniques* **134**, 27-37.
- Boorse, G.C., Bosma, T.L., Meyer, A.-C., Ewers, F.W., and Davis, S.D.** (1998). Comparative methods of estimating freezing temperatures and freezing injury in leaved of chaparral shrubs. *International Journal of Plant Sciences*. **159**, 513-521.

Borghetti, M., Grace, J., and Raschi, A. (1993). Water transport in plants under climatic stress. In *Proceedings* (Vallombrosa, Firenze, (ITA): Cambridge University Press), pp. 300.

Bory, G. (1986). Floraison et métabolites de réserve chez l'*Ailanthus glandulosa* Desf. (Simarubacées). *Naturalia monspeliensia*, 509-522.

Bory, G., and Clair Maczulajtys, D. (1988). Aptitude au débourrement des bourgeons et répartition des glucides dans la pousse d'un an de l'*Ailanthus glandulosa* Desf. (Simarubacées). *Bulletin de la Société Botanique de France, Actualité Botanique*. **135**, 81-90.

Bory, G., and Clair Maczulajtys, D. (1990). Importance of foliar nectaries in the physiology of tree of heaven (*Ailanthus glandulosa* Desf., Simaroubaceae). *Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres Botaniques* **137**, 139-155.

Boulter, M.C., Benfield, J.N., Fisher, H.C., Gee, D.A., and Lhotak, M. (1996). The evolution and global migration of the Aceraceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* **351**, 589-603.

Braun, H.J. (1984). The significance of the accessory tissues of the hydrosystem for osmotic water shifting as the second principle of water ascent, with some thoughts concerning the evolution of trees. *IAWA Bulletin*. **5**, 275-294.

Bréda, N., Granier, A., and Aussenac, G. (2004). La sécheresse de 2003 dans le contexte climatique des 54 dernières années : analyse écophysiological et influence sur les arbres forestiers. *Revue Forestière Française* **56**, 109-131.

Bréda, N., Huc, R., Granier, A., and Dreyer, E. (2006). Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science* **63**, 625-644.

Brisson J. (2001). Neighborhood competition and crown asymmetry in *Acer saccharum*. *Canadian Journal of Forest Research* **31**, 2151-2159.

Browse, J., and Lange, B.M. (2004). Counting the cost of a cold-blooded life: metabolomics of cold acclimation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**, 14996-14997.

Brunel, N. (2001). Etude du déterminisme de la préséance des bourgeons le long du rameau d'un an chez le pommier (*Malus domestica* [L.] Borkh.) : Approches morphologique, biochimique et moléculaire. (Thèse, Angers : Université d'Angers) pp. 212.

Burr, K.E., Tinus, R.W., Wallner, S.J., and King, R.M. (1990). Comparison of three cold hardiness tests for conifer seedlings. *Tree Physiology*, 351-369.

C

Campbell, N.A. (1995). Biologie. (Bruxelles).

- Cerasoli, S., Scartazza, A., Brugnoli, E., Chaves, M.M., and Pereira, J.S.** (2004). Effects of partial defoliation on carbon and nitrogen partitioning and photosynthetic carbon uptake by two-year-old cork oak (*Quercus suber*) saplings. *Tree Physiology* **24**, 83-90.
- Carrega, P.** (1994). Topoclimatologie et habitat. In *Revue d'Analyse Spatiale Quantitative et Appliquée*. (Thèse, Nice : Université de Nice), pp. 408.
- Cavender-Bares, J.** (2005). Impacts of freezing on long-distance transport in woody plants. In *Vascular Transport in Plants*, M.Z.N.M. Holbrook and P. Melcher, eds (Oxford: Elsevier Inc).
- Cavender-Bares, J., Cortes, P., Rambal, S., Joffre, R., Miles, B., and Rocheteau, A.** (2005). Summer and winter sensitivity of leaves and xylem to minimum freezing temperatures: a comparison of cooccurring Mediterranean oaks that differ in leaf lifespan. *New Phytologist* **168**, 597-612.
- Cavières, L.A., Rada, F., Azocar, A., Garcia-Nunez, C., and Cabrera, H.M.** (2000). Gas exchange and low temperature resistance in two tropical high mountain tree species from the Venezuelan Andes. *Acta Oecologica* **21**, 203-211.
- Cellier, P.** (1989). Mécanismes du refroidissement nocturne : application à la prévision des gelées de printemps. *Le Gel en Agriculture I.N.R.A.*, 145-164.
- Chen, P., Li, P.H., and Weiser, C.J.** (1975). Induction of frost hardiness in red-osier dogwood stems by water stress. *HortScience* **10**, 372-374.
- Chen, P.M., Li, P.H., and Burke, M.J.** (1977). Induction of Frost Hardiness in Stem Cortical Tissues of *Cornus stolonifera* Michx. by Water Stress. *Plant Physiology* **59**, 236-239.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., and Zhu, J.K.** (2006). Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum* **126**, 52-61.
- Cho, C.H., Urquidi, J., and Robinson, G.W.** (1999). Molecular-level description of temperature and pressure effects on the viscosity of water. *Journal of Chemical Physics* **111**, 10171-10176.
- Choisnel, E., Jourdain, S., Camban, M., Klis-Lilienthal, I., and McVeigh, J.-P.** (1993). Un système de prévision des gelées de printemps à une échelle fine dans le vignoble champenois. *La Météorologie* **8**, 8-18.
- Chomba, B.M., Guy, R.D., and Weger, H.G.** (1993). Carbohydrate reserve accumulation and depletion in Engelmann spruce (*Picea engelmannii* Parry): effects of cold storage and pre-storage CO₂ enrichment. *Tree Physiology* **13**, 351-364.
- Christersson, L.** (1978). The influence of photoperiod and temperature on the development of frost hardiness in seedlings of *Pinus sylvestris* and *Picea abies*. *Physiologia Plantarum*. **44**, 288-294.

- Christersson, L.** (1985). Frost damage during the growing season. In Plant production in the north, A. KAURIN, O. JUNTILA, and J. NILSEN, eds (Oslo: Norwegian Univ. Press), pp. 191-198.
- Chuine, I.** (2000). A unified model for the budburst of trees. *Journal of Theoretical Biology* **207**, 337-347.
- Chuine, I., and Beaubien, E.** (2001). Phenology is a major determinant of temperate tree range. *Ecology Letters* **4**, 500-510.
- Cinotti, B.** (1989). La gélivure des chênes : Front de gel source de contraintes internes, incidence des propriétés anatomiques et mécano-physiques (Thèse, Nancy: Institut National Polytechnique de Lorraine), pp. 145.
- Clausen, S., and Apel, K.** (1991). Seasonal changes in the concentration of the major storage protein and its mRNA in xylem ray cells of poplar trees. *Plant Molecular Biology* **17**, 669-678.
- Cleland, E.E., Chuine, I., Menzel, A., Mooney, H.A., and Schwartz, M.D.** (2007). Shifting plant phenology in response to global change. *TRENDS in Ecology and Evolution* **22**, 357-365.
- Cochard, H., and Tyree, M.T.** (1990). Xylem dysfunction in Quercus : vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. *Tree Physiology*, 393-407.
- Cochard, H., Peiffer, M., Le Gall, K., and Granier, A.** (1997). Developmental control of xylem hydraulic resistances and vulnerability to embolism in Fraxinus excelsior L. Impacts on water relations. *Journal of Experimental Botany* **48**, 655-663.
- Cochard, H., Lemoine, D., Améglio, T., and Granier, A.** (2001). Mechanisms of xylem recovery from winter embolism in Fagus sylvatica L. *Tree Physiology* **21**, 27-33.
- Coleman, G.D., and Chen, T.H.H.** (1993). Sequence of a poplar bark storage protein gene. *Plant Physiology*. **102**, 1347-1348.
- Coleman, G.D., Chen, T.H.H., and Fuchigami, L.H.** (1992). Complementary DNA cloning of poplar bark storage protein and control of its expression by photoperiod. *Plant Physiology*. **98**, 687-693.
- Coleman, G.D., Chen, T.H.H., Ernst, S.G., and Fuchigami, L.H.** (1991). Photoperiod control of poplar bark storage protein accumulation. *Plant Physiology*. **96**, 686-692.
- Côme, D.** (1992). Les végétaux et le froid. (Paris: Hermann, éditeurs des sciences et des arts).600 p
- Constantinidou, H.A., Menkissoglu, O., and Stergiadou, H.C.** (1991). The role of ice nucleation active bacteria in supercooling of citrus tissues. *Physiologia Plantarum* **81**, 548-554.

- Cortes, P.M., and Sinclair, T.R.** (1985). The Role of Osmotic Potential in Spring Sap Flow of Mature Sugar Maple Trees (*Acer saccharum* Marsh). *Journal of Experimental Botany* **36**, 12-24.
- Coste, H.** (date inconnue). Flore descriptive et illustrée de la France, de la corse et des contrées limitrophes. (Paris: Librairie Scientifique et Technique, Albert Blanchard), pp 416
- Cottignies, A.** (1986). The hydrolysis of starch as related to the interruption of dormancy in the ash bud. *Journal of Plant Physiology* **123**, 381-388.
- Cox, R.M., Zhu, X.B.** (2003). Effects of simulated thaw on xylem cavitation, residual embolism, spring dieback and shoot growth in yellow birch. *Tree Physiology* **23**, 615-624.
- Crowe, J.H.** (1992). Anhydrobiosis. *Annual Revue of Physiology*. **54**, 579-599.
- Cruiziat, P., Cochard, H., and Améglio, T.** (2002). Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science* **59**, 723-752.
- Cruiziat, P., Cochard, H., and Améglio, T.** (2003). L'embolie des arbres. *Pour la Science* N°305, 50-56.
- Cruiziat, P. and Tyree, M.T.** (1990). La montée de la sève dans les arbres. *Recherche* **21** (220), 406-414
- Curt, T., Coll, L., Prevosto, B., Balandier, P., and Kunstler, G.** (2005). Plasticity in growth, biomass allocation and root morphology in beech seedlings as induced by irradiance and herbaceous competition. *Annals of Forest Sciences*. **62**, 51-60.
- Czaninski, Y.** (1966). Aspects infrastructuraux de cellules contiguës aux vaisseaux dans le xylème de Robinia pseudo-acacia. *Compte Rendu Académique des Sciences. Paris, Série D: Sciences naturelles*. **262**, 2336-2339.
- Czaninski, Y.** (1968). Etude du parenchyme ligneux du robinier (parenchyme à réserves et cellules associées aux vaisseaux) au cours du cycle annuel. *Journal of Microscopy*, 145-164.
- Czaninski, Y.** (1979). Cytochimie ultrastructurale des parois du xylème secondaire. *Biologie Cellulaire*. **35**, 97-102.
- Czaninski, Y., and Catesson, A.M.** (1969). Localisation ultrastructurale d'activités peroxydasiques dans les tissus conducteurs végétaux au cours du cycle annuel. *Journal of Microscopy* **8**, 875-888.

D

- Dalen, L.S., Johnsen, O., and Ogner, G.** (2001). CO₂ enrichment and development of freezing tolerance in Norway spruce. *Physiologia Plantarum* **113**, 533-540

- Dambrine, E., Martin, F., Carisey, N., Granier, A., Hallgren, J.E., and Bishop, K.** (1995). Xylem sap composition. A tool for investigating mineral uptake and cycling in adult spruce. *Plant Soil* **168/169**, 233-241.
- Daudet, F.A., Améglio, T., Cochard, H., Archilla, O., and Lacointe, A.** (2005). Experimental analysis of the role of water and carbon in tree stem diameter variations. *Journal of Experimental Botany* **56**, 135-144.
- Deans, J.D., Billington, H.L., and Harvey, F.J.** (1995). Assessment of frost damage to leafless stem tissues of *Quercus petraea*: A reappraisal of the method of relative conductivity. *Forestry* **68**, 25-34.
- Decourteix, M.** (2005). Caractérisations physiologique et moléculaire de transporteurs de saccharose et d'hexoses de xylème de noyer (*Juglans regia* L. cv Franquette) : rôles dans les échanges latéraux de sucres pendant la période non-feuillée. (Thèse, Clermont-Ferrand : Université Blaise Pascal), pp. 88 + annexes.
- Decourteix, M., Alves, G., Brunel, N., Améglio, T., Guilliot, A., Lemoine, R., Pétel, G., and Sakr, S.** (2006). JrSUT1, a putative xylem sucrose transporter, could mediate sucrose influx into xylem parenchyma cells and be up-regulated by freeze-thaw cycles over the autumn-winter period in walnut tree (*Juglans regia* L.). *Plant, Cell and Environment*. **29**, 36-47.
- Decourteix, M., Améglio, T., Alves, G., Valentin, V., Sakr, S., Julien, J.L., Pétel, G., Guilliot, A., and Lacointe, A.** (2004). Temperature effects on xylem sap osmolarity in walnut tree: evidence for a vitalistic model of winter embolism repair. *Tree Physiology* **24**, 785-793.
- Decourteix, M., Alves, G., Bonhomme, M., Peuch, M., Ben Baaziz, K., Brunel, N., Guilliot, A., Rageau, R., Améglio, T., Pétel, G., and Sakr, S.** (2008). Sucrose (JrSUT1) and hexose (JrHT1 and JrHT2) transporters in walnut xylem parenchyma cells: their potential role in early events of growth resumption. *Tree Physiology* **28**, 215-224.
- Delagrangé, S., Messier, C., Lechowicz, M.J., and Dizengremel, P.** (2004). Physiological, morphological and allocational plasticity in understory deciduous trees: importance of plant size and light availability. *Tree Physiology* **24**, 775-784.
- Delagrangé, S., Montpied, P., Dreyer, E., Messier, C., and Sinoquet, H.** (2006). Does shade improve light interception efficiency? A comparison among seedlings from shade-tolerant and -intolerant temperate deciduous tree species. *New Phytologist* **172**, 293-304.
- Delaire, M.** (2005). Variations de la capacité d'absorption minérale par les racines du jeune *Acer pseudoplatanus* L. (Acéracées) consécutives à l'histoire nutritionnelle récente et ancienne de la plante. Application à la culture hors sol des végétaux ligneux (Thèse, Angers: Université d'Angers), pp. 200.
- Delauney, A.J., and Verma, D.P.S.** (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal* **4**, 215-223.

- Dellus, V., Staszewski, M., Gendreaud, T., Maujean, F., Améglio, T.** (2003). Echaudure des troncs : Les effets cumulés de l'état physiologique de l'arbre et du gel à l'étude. *PHM revue horticole*, supplément espaces verts n° 450, XIII-XV.
- Départements de la Santé des Forêts**, 27/08/2003, Sécheresse et Canicule : les conséquences sur les peuplements forestiers. *Information santé des forêts*, pp 4
- Dereuddre, J., and Gazeau, C.** (1992). Les végétaux et les très basses températures. In Les végétaux et le froid, D. Côme, ed (Paris), pp. 600.
- Derr, W.F., and Evert, R.F.** (1967). The cambium and seasonal development of the phloem in *Robinia pseudoacacia*. *American Journal of Botany* 54, 147-153.
- Des Abbayes, H., Chadeaud, M., De Ferre, Y., Feldmann, J., Gaussen, H., Grasse, P.P., Leredde, M.C., Ozenda, P., and Prévot, A.R.** (1963). Précis de Botanique, M.e.C. Editeurs, ed (Paris), pp. 1039.
- Deshayes, M., Guyon, D., Jeanjean, H., Stach, N., Jolly, A., and Hagolle, O.** (2006). The contribution of remote sensing to the assessment of drought effects in forest ecosystems. *Annals of Forest Sciences*. 63, 579-595.
- Dexter, S.T., Tottingham, W.E., and Graber, L.F.** (1930). Preliminary results in measuring the hardness of plants. *Plant Physiology* 5, 215-223.
- Dexter, S.T., Tottingham, W.E., and Graber, L.F.** (1932). Investigations of the hardness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiology* 7, 63-78.
- Dionne, J., Castonguay, Y., Nadeau, P., and Desjardins, Y.** (2001). Freezing Tolerance and Carbohydrate Changes during Cold Acclimation of Green-Type Annual Bluegrass (*Poa annua* L.) Ecotypes. *Crop Science* 41, 443-451.
- Donatella, M., Vendramin, G.G., Comps, B., Dupanloup, I., Geburek, T., Gömöry, D., Latalowa, M., Litt, T., Paule, L., Roure, J.M., Tantau, I., Van Der Knaap, W.O., Petit, R.J., and De Beaulieu, J.-L.** (2006). A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytologist* 171, 199-221.
- Donnelly, J.R.** (1976). Carbohydrate levels in current-year shoots of sugar maple. *USDA Forest Service, Research Paper*, 6 pp.
- Dreyer, E., and Mauget, J.C.** (1986). Conséquences immédiates et différées de périodes de sécheresse estivale sur le développement de jeunes noyers (*Juglans regia* L., cv. "Pedro"): dynamique de croissance et dormance automno-hivernale des bourgeons. *Agronomie* 6, 639-650.
- Dreyer, E., Aussenac, G., Bonnet Masimbert, M., Dizengremel, P., Favre, J.M., Garrec, J.P., Le Tacon, F., and Martin, F.** (1989). Eds. Forest tree physiology (Nancy, (FRA)), pp. 875.

E

Ehleringer, J.R., and Forseth, I. (1980). Solar tracking by plants. *Science* **210**, 1094-1098.

Eliasson, L. (1968). Dependence of root growth on photosynthesis in *Populus tremula*. *Physiologia Plantarum* **21**, 806-810.

Embree, C.G., and McRae, K.B. (1991). An exploratory study of reciprocal apple rootstock and scion hardiness with two methods of assessment. *HortScience* **26**, 1523-1525.

Essiamah, S., and Eschrich, W. (1985). Changes of starch content in the storage tissues of deciduous trees during winter and spring. *IAWA Bulletin*. **6**, 97-106.

Ewers, F.W. (1985). Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees, and lianas. *IAWA Bulletin* n. s. **6**, 309-317.

Ewers, F.W., Améglio, T., Cochard, H., Beaujard, F., Martignac, M., Vandame, M., Bodet, C., and Cruiziat, P. (2001). Seasonal variation in xylem pressure of walnut trees: root and stem pressures. *Tree Physiology* **21**, 1123-1132.

F

Fallot, J.M. (1992). Etude de la ventilation d'une grande vallée préalpine (la vallée de la Sarine en Gruyère) (Thèse, Fribourg, Suisse: Université de Fribourg), pp. 475.

Feng, Z., Dyckmans, J., and Flessa, H. (2004). Effects of elevated carbon dioxide concentration on growth and N₂ fixation of young *Robinia pseudoacacia*. *Tree Physiology* **24**, 323-330

Fège, A.S., and Brown, G.N. (1984). Carbohydrate distribution in dormant *Populus* shoots and hardwood cuttings. *Forest Science* **30**, 999-1010.

Ferguson, A.R., Eiseman, J.A., and Dale, J.R. (1981). Xylem sap from *Actinidia chinensis* : gradients in sap composition. *Annals of Botany* **48**, 75-80.

Fitter, A.H., and Hay, R.K.M. (1987). Environmental physiology of plants. (London: Academic Press).

Flint, H.L., and McGuire, J.J. (1962). Response of rooted cuttings of several woody ornamental species to overwinter storage. Proceedings of the American Society for *Horticultural Science*. **80**, 625-629.

Flint, H.L., Boyse, B.R., and Beattie, D.J. (1967). Index of injury - a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method. *Canadian Journal of Plant Sciences*. **47**, 229-230.

Fowells, H.A. (1965). Silvics of forest trees of the United States. *USDA Agriculture*. Hdbk, 271.

Frak, E., Le Roux, X., Millard, P., Dreyer, E., Jaouen, G., Saint-Joanis, B., Wendler, R. (2001). Changes in total leaf nitrogen and partitioning, of leaf nitrogen drive photosynthetic acclimation to light in fully developed walnut leaves. *Plant, Cell and Environment*. **24**, 12 1279-1288

Fromard, L. (1990). Etude du transport des glucides entre les cellules associées aux vaisseaux (CAV) et les vaisseaux chez *Acer platanoides* et *Robinia pseudoacacia*. *Incidence des facteurs saisonniers et climatiques*, pp. 181 pp.

Frossard, J.S., and Lacoïnte, A. (1988). Les variations saisonnières de l'utilisation du carbone chez les arbres au stade végétatif, en zone tempérée (revue bibliographique). *Bulletin de la Société de Botanique de France, Actualité Botanique* **135**, 9-24.

Fuchigami, L.H., Hotze, M., and Weiser, C.J. (1977). The relationship of vegetative maturity to rest development and spring bud-break. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **102**, 450-452.

Fuchigami, L.H., Weiser, C.J., Kobayashi, K., Timmis, R., and Gusta, L.V. (1982). A degree growth stage (°GS) model and cold acclimation in temperature woody plants. In *Plant cold hardiness and freezing stress. Mechanisms and crop implications*. Vol. 2, S.A.E. LI P.H., ed (New York: Academic Press), pp. 93-116.

G

Garg, A.K., Kim, J.K., Owens, T.G., Ranwala, A.P., Do Choi, Y., Kochian, L.V., and Wu, R.J. (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 15898-15903.

Garnier, E. (1985). Dessèchement du sol et indicateurs physiologiques de l'état hydrique chez le Pêcher. Application au déclenchement de l'irrigation (Thèse, Montpellier : Université de Montpellier), pp. 82.

Gebre, G.M., and Tschaplinski, T.J. (2002). Solute accumulation of chestnut oak and dogwood leaves in response to throughfall manipulation of an upland oak forest. *Tree Physiology* **22**, 251-260.

Gebre, G.M., Kuhns, M.R., and Brandle, J.R. (1994). Organic solute accumulation and dehydration tolerance in three water-stressed *Populus deltoides* clones. *Tree Physiology* **14**, 575-587.

Geiger, M. (1980). Recherches topoclimatiques au Palatinat. *Recherches Géographiques à Strasbourg* **13-14**, 95-102.

Geiger, R. (1965). The climate near the ground. (Cambridge, Mass.: Harvard University Press). 611 p

Germain, E., Jalinat, J., and Marchou, M. (1973). Biologie florale du Noyer (*Juglans regia* L.). *Bulletin technique d'information* n°282.

- Gibbs, D.** (1940). Studies in trees physiology. II - Seasonal changes in the food reserves of field birch *Betula populifolia* Marsh. *Canadian Journal of Research*. **18**, 1-9.
- Gibson, S., Arondel, V., Iba, K., and Somerville, C.** (1994). Cloning of a temperature-regulated gene encoding a chloroplast omega -3 desaturase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* **106**, 1615-1621.
- GIEC.** (2002). Les changements climatiques et la biodiversité. (Genève: Document technique V du GIEC).75 p
- Gleeson, D., Lelu-Walter, M.A., and Parkinson, M.** (2005). Overproduction of proline in transgenic hybrid larch (*Larix x leptoeuropaea* (Dengler)) cultures renders them tolerant to cold, salt and frost. *Molecular Breeding* **15**, 21-29.
- Glerum, C., and Balatinecz, J.J.** (1980). Formation and distribution of food reserves during autumn and their subsequent utilization in jack pine. *Canadian Journal of Botany*. **58**, 40-54.
- Grassi, G., and Magnani, F.** (2005). Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Environment* **28**, 834-849.
- Greer, D.H., Robinson, L.A., Hall, A.J., Klages, K., and Donnison, H.** (2000). Frost hardening of *Pinus radiata* seedlings: effects of temperature on relative growth rate, carbon balance and carbohydrate concentration. *Tree Physiology* **20**, 107-114.
- Griffith, M., and Brown, G.M.** (1982). Cell wall deposits in winter rye *Secale cereale* L. Puma' during cold acclimation. *Botanical Gazette* **143**, 486-490.
- Griffith, M., and McIntyre, C.H.** (1990). The effect of photoperiod and temperature on growth and frost resistance of winter rye root systems. *Physiologia Plantarum* **79**, 519-525.
- Grulke, N.E., and Retzlaff, W.A.** (2001). Changes in physiological attributes of ponderosa pine from seedling to mature tree. *Tree Physiology* **21**, 275-286.
- Guignard, J.L., Cosson, L., and Henry, M.** (1985). Abrégé de phytochimie. (Paris: Masson).
- Gusta, L.V., Tyler, N.J., and Chen, T.H.H.** (1983). Deep undercooling in woody taxa growing north of the -40 deg C isotherm. *Plant Physiology* **72**, 122-128.
- Guy, C.L.** (1990). Cold acclimation and freezing stress tolerance : role of protein metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41**, 187-223.
- Guy, C.L.** (2003). Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. *Canadian Journal of Botany.-Revue Canadienne de Botanie*. **81**, 1216-1223.
- Guyot, G.** (1997). Climatologie de l'environnement. (Masson).505 p

H

Hacke, U., and Sauter, J.J. (1996). Xylem dysfunction during winter and recovery of hydraulic conductivity in diffuse-porous and ring-porous trees. *Oecologia* **105**, 435-439.

Hallé, F. (2004). Architecture de plantes. (JPC Editions). 169 p p

Hallé, F., and Oldeman, R.A.A. (1970). Essai sur l'architecture et la dynamique de croissance des arbres tropicaux. (Paris: Masson).

Halmer, P., and Bewley, J.D. (1982). 21. Control by external and internal factors over the mobilization of reserve carbohydrates in higher plants. In Plant carbohydrates. I. Intracellular carbohydrates, T.W.E. LOEWUS F.A., ed (New York: Springer Verlag), pp. 748-793.

Hanninen, H. (1991). Does climatic warming increase the risk of frost damage in northern trees? *Plant, Cell and Environment* **14**, 449-454.

Hansen, P. (1967a). 14C-studies on apple trees. II. Distribution of photosynthates from top and base leaves from extension shoots. *Physiologia Plantarum* **20**, 720-725.

Hansen, P. (1967b). 14C-studies on apple trees. III. The influence of season on storage and mobilization of labelled compounds. *Physiologia Plantarum* **20**, 1103-1111.

Hansen, P. (1971). 14C studies on apple trees. VII. The early seasonal growth in leaves, flowers and shoots as dependent upon current photosynthates and existing reserves. *Physiologia Plantarum* **25**, 469-473.

Hansen, P., and Grauslund, J. (1973). 14C-studies on apple trees. VIII. The seasonal variation and nature of reserves. *Physiologia Plantarum* **28**, 24-32.

Hartig, T. (1858). Ueber die Bewegung des Saftes in den Holzpflanzen. *Botanische Zeitung* **16**, 329-335.

Hartmann, W. (1975). Der Reservekohlenhydratgehalt in einjährigen Trieben von *Juglans regia* L. und seine Veränderung während der Winterruhe. *Angewandte Botanik*. **49**, 237-251.

Hatano, S. (1978). Studies on frost hardiness in *Chlorella ellipsoidea*: effects of antimetabolites, surfactants, hormones, and sugars on the hardening process in the light and dark. In Plant cold hardiness and freezing stress. Mechanisms and crop implications. Vol. 1, S.A.E. LI P.H., ed (New York: Academic Press), pp. 175-196.

Hay, J.O., Moulia, B., Lane, B., Freeling, M., and Silk, W.K. (2000). Biomechanical analysis of the *Rolled (Rld)* leaf phenotype of maize. *American Journal of Botany* **87**(5), 625-633.

Heichel, G.H., and Turner, N.C. (1976). Phenology and leaf growth of defoliated hardwood trees. In Perspectives in forest entomology. pp. 31-40.

- Henriksson, J.** (2001). Differential shading of branches or whole trees: survival, growth, and reproduction. *Oecologia* **126**, 482-486.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., and Buitink, J.** (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *TRENDS in Plant Science* **6**, 431-438.
- Hoekstra, F.A., Wolkers, W.F., Buitink, J., Golovina, E.A., Crowe, J.H., and Crowe, L.M.** (1997). Membrane stabilization in the dry state. *Comparative Biochemistry and Physiology* **117A**, 335-341.
- Holl, W.** (1997). Storage and mobilization of carbohydrates and lipids. In *Trees. Contributions to modern tree physiology*, H. RENNENBERG, W. ESCHRICH, and H. ZIEGLER, eds (Leiden: Backhuys Publishers), pp. 197-211.
- Holubowicz, T., Cummins, J.N., and Forsline, P.L.** (1982). Responses of Malus clones to programmed low-temperature stresses in late winter. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **107**, 492-496.
- Hong, S.G., and Sucoff, E.** (1982). Temperature effects on acclimation and deacclimation of supercooling in apple xylem. In *Plant cold hardiness and freezing stress*, P.H. LI and A. SAKAI, eds (New York: Academic Press), pp. 341-356.
- Honkanen, T., and Haukioja, E.** (1994). Why does a branch suffer more after branch-wide than after tree-wide defoliation ? *Oikos* **71**, 441-450.
- Hopkins, W.G.** (2003). *Physiologie végétale*. Traduction de la 2^e édition américaine par Serge Rambour. Révision scientifique de Charles-Marie Evrard (eds. De Boeck Université, Bruxelles) p.514.
- Howell, G.S., and Weiser, C.J.** (1970). The Environmental Control of Cold Acclimation in Apple. *Plant Physiology* **45**, 390-394.
- Hufty, A.** (2001). Introduction à la climatologie : le rayonnement et la température, l'atmosphère, l'eau, le climat et l'activité humaine. (Bruxelles De Boeck université).576 p
- Hugly, S., and Somerville, C.** (1992). A Role for Membrane Lipid Polyunsaturation in Chloroplast Biogenesis at Low Temperature. *Plant Physiology*. **99**, 197-202.
- Huner, N.P.A., Öquist, G., and Sarhan, F.** (1998). Energy balance and acclimation to light and cold. *TRENDS in Plant Science* **3**, 224-230.

I

- Ichiki, S., and Yamaya, H.** (1982). Sorbitol in tracheal sap of dormant apple (*Malus domestica* Borkh) shoots as related to cold hardiness. In *Plant cold hardiness and freezing stress. Mechanisms and crop implications*. Vol. 2, S.A.E. LI P.H., ed (New York: Academic Press), pp. 181-187.

IPCC. (2001). Climate change 2001: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of the Working Group II to the Third Assessment Report of IPCC. (Cambridge).970 p

IPCC. (2007). Climate Change 2007: The Physical Science Basis - Summary for Policymakers. In Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of IPCC (Geneva), pp. 18.

Irving, R.M., and Lanphear, F.O. (1967). Environmental Control of Cold Hardiness in Woody Plants. *Plant Physiology* **42**, 1191-1196.

J

Jalkanen, R.E., Redfern, D.B., and Sheppard, L.J. (1998). Nutrient deficits increase frost hardiness in Sitka spruce (*Picea sitchensis*) needles. *Forest Ecology and Management* **107**, 191-201.

Janssen, P.H.M., and Heuberger, P.S.C. (1995). Calibration of process-oriented models. *Ecological Modelling* **83**, 55-66.

Johansson, N.O., and Krull, E. (1970). Ice formation, cell contraction, and frost killing of wheat plants. *Meddelanden Statens Vaxtskyddsanstalt/National Swedish Institute for Plant Protection Contributions* **14**, 343-362.

Johnson, R.W., Tyree, M.T., and Dixon, M.A. (1987). A requirement for sucrose in xylem sap flow from dormant maple trees. *Plant Physiology* **84**, 495-500.

Jones, K. S., Paroschy, J., McKersie, B. D. and Bowley, S. R. (1999). Carbohydrate composition and freezing tolerance of canes and buds in *Vitis vinifera*. *Journal of Plant Physiology* **155** (1), 101-106

Jonsson, A.M., Rosengren, U., and Nihlgard, B. (2004). Excess nitrogen affects the frost sensitivity of the inner bark of Norway spruce. *Annals of Forest Sciences.* **61**, 293-298.

Jourdan, J. (1980). Variations saisonnières de la morphogenèse et de la croissance des systèmes aériens et souterrains chez le peuplier. Leurs relations avec les glucides et les transferts minéraux (Thèse, Grenoble : Faculté des Sciences), pp. 160.

K

Kajji, A. (1992). Gestion du carbone chez le jeune noyer (Thèse, Clermont-Ferrand : Université Blaise Pascal), pp. 77 + annexes.

Kajji, A., Lacointe, A., Daudet, F.A., Maillard, P., and Archer, P. (1990). Carbon economy of a young walnut tree. *Acta Horticulturae* 223-231.

- Kalberer, S.R., Wisniewski, M., and Arora, R.** (2006). Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: Current understanding and emerging concepts. *Plant Science* **171**, 3-16.
- Kalberer, S.R., Leyva-Estrada, N., Krebs, S.L., and Arora, R.** (2007). Frost dehardening and rehardening of floral buds of deciduous azaleas are influenced by genotypic biogeography. *Environmental and Experimental Botany* **59**, 264-275.
- Kandiah, S.** (1979). Turnover of Carbohydrates in Relation to Growth in Apple Trees. I. Seasonal Variation of Growth and Carbohydrate Reserves. *Annals of Botany*. **44**, 175-183.
- Keller, J.D., and Loescher, W.H.** (1989). Nonstructural carbohydrate partitioning in perennial parts of sweet cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **114**, 969-975.
- Kellomäki, S., Väisänen, H., Hänninen, H., Kolström, T., Lauhanen, R., Mattila, U. and Pajari, B.** (1992). A simulation model for the succession of the boreal forest ecosystem. *Silva Fennica* **26**, 1-18.
- Ketchie, D.O., and Kammereck, R.** (1987). Seasonal variation of cold resistance in *Malus* woody tissue as determined by differential thermal analysis and viability tests. *Canadian Journal of Botany* **65**, 2640-2645.
- Kobayashi, K.D., Fuchigami, L.H., and Weiser, C.J.** (1983). Modeling cold hardiness of red-osier dogwood. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **108**, 376-381.
- Koch, K.E., Jones, P.H., Avigne, W.T., and Allen, L.H.J.** (1986). Growth, dry matter partitioning, and diurnal activities of RuBP carboxylase in citrus seedlings maintained at two levels of CO₂. *Physiologia Plantarum* **67**, 477-484.
- Körner, Ch.** (2003). Ecological impacts of atmospheric CO₂ enrichment on terrestrial ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A* **361**, 2023-2041.
- Kozina, L.V.** (1986). Outflow and storage of assimilates in plants of *Picea jezoensis* and *Pinus koraiensis*. *Soviet Plant Physiology* **33**, 42-49.
- Kramer, P.J.** (1940). Root resistance as a cause of decreased water absorption by plants at low temperatures. *Plant Physiology* **15**, 63-79.
- Kramer, P.J., and Kozlowski, T.T.** (1960). *Physiology of trees*. (New York: McGraw Hill).
- Kramer, P.J., and Kozlowski, T.T.** (1979a). *Physiology of woody plants*. (New York: Academic Press).
- Kramer, P.J., and Kozlowski, T.T.** (1979b). Carbohydrates. In *Physiology of Woody Plants*, A. Press, ed (New York), pp. 258-281.

Krishna, P., Sacco, M., Cherutti, J.F., and Hill, S. (1995). Cold-induced accumulation of hsp90 transcripts in *Brassica napus*. *Plant Physiology* **107**, 915-923.

Kruger, K.W., and Trappe, J.M. (1967). Food reserves and seasonal growth of Douglas-fir seedlings. *Forest Science* **13**, 192-202.

Kunst, A., Draeger B. and Ziegenhorn, J. (1984). Carbohydrates U.V. methods with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In *Methods in enzymatic analysis*, Third Edn, Vol. IV, Metabolites. Eds. H.U. Bergmeyer. Verlag Chemie, Basel, pp 162-172

Kurkela, S., and Borg-Franck, M. (1990). Cloning and characterization of a cold- and ABA-inducible *Arabidopsis* gene. *Plant Molecular Biology* **15**, 137-144.

Kurkela, S., and Borg-Franck, M. (1992). Structure and expression of kin2, one of two cold- and ABA-induced genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* **19**, 689-692.

Kuroda, H., Sagisaka, S., and Chiba, K. (1990). Frost induces cold acclimation and peroxide-scavenging systems coupled with the pentose phosphate cycle in apple twigs under natural conditions. *Journal of the Japanese Society of Horticultural Science* **59**, 409-416.

Kuroda, K., Ohtani, J., and Fujikawa, S. (1997). Supercooling of xylem ray parenchyma cells in tropical and subtropical hardwood species. *Trees* **12**, 97-106.

L

Lacointe, A. (1989). Assimilate allocation and carbon reserves in *Juglans regia* L. seedlings. *Annales des Sciences Forestières* **46**, 832-836.

Lacointe, A. (2000). Carbon allocation among tree organs: a review of basic processes and representation in functional-structural tree models. *Annals of Forest Science* **57**, 521-533.

Lacointe, A. (2007). Flux de carbone chez les arbres (Clermont-Ferrand, Habilitation à Diriger des Recherches), pp. 50.

Lacointe, A., Kajji, A., Daudet, F.A., Archer, P., and Frossard, J.S. (1993). Mobilization of carbon reserves in young walnut trees. *Acta Botanica Gallica* **140**, 435-441.

Lacointe, A., Kajji, A., Daudet, F.A., Archer, P., and Frossard, J.S. (1995). Seasonal variation of photosynthetic carbon flow rate into young walnut and its partitioning among the plant organs and functions. *Journal of Plant Physiology* **146**, 222-230.

Lacointe, A., Deleens, E., Améglio, T., Saint-Joanis, B., Lelarge, C., Vandame, M., Song, G.C., and Daudet, F.A. (2004). Testing the branch autonomy theory : a ¹³C/¹⁴C double labelling experiment on differentially shaded branches. *Plant, Cell and Environment* **27**, 1159-1168.

- Langholz, H.**, (1989). A simple model for predicting daily mean soil temperatures. *Journal of Agronomy and Crop Science*. **163**, 312–318.
- Langheinrich, U., and Tischner, R.** (1991). Vegetative storage proteins in poplar: Induction and characterization of a 32- and a 36-kilodalton polypeptide. *Plant Physiology*. **97**, 1017-1025.
- Lapointe, M., Cogliastro, A., and Daigle, S.** (2007). Stratégie de croissance des arbres feuillus en condition d'enrichissement. In Rapport final préparé pour le ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec, Programme de mise en valeur des ressources du milieu forestier-Volet II Projet 2-06-63-35 (Montréal: Institut de recherche en biologie végétale), pp. 24
- Larcher, W.** (1980). The temperature limits for plant life. In *Physiological plant ecology* (Berlin: Springer Verlag), pp. 303.
- Larcher, W.** (1995). *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups.* (Berlin: Springer).
- Lasheen, A.M., and Chaplin, C.E.** (1977). Seasonal sugar concentration in two peach cultivars differing in cold hardiness. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* **102**, 171-174.
- Le Roux, X., Lacointe, A., Escobar-Gutierrez, A.J., and Le Dizes, S.** (2001). Carbon-based models of individual tree growth: A critical appraisal. *Annals of Forest Science* **58**, 469-506.
- Leborgne, N., Teulières, C., Travert, S., Rols, M.P., Teissie, J., and Boudet, A.M.** (1995). Introduction of specific carbohydrates into *Eucalyptus gunnii* cells increases their freezing tolerance. *European Journal of Biochemistry* **229**, 710-717.
- Lecointre, G. and Le Guyader, H.** (2001). *Classification phylogénétique du vivant* (Paris : Editions Belin)
- Legave, J.M., Garcia, G., and Marco, F.** (1984). Interférence des conditions de température et des besoins variétaux en froid et en chaleur sur la détermination de la fin de la dormance puis de la floraison de diverses variétés d'abricotier dans l'aire de culture française. *Fruits* **39**, 399-410.
- Leinonen, I.** (1996). A Simulation Model for the Annual Frost Hardiness and Freezing Damage of Scots Pine. *Annals of Botany*. **78**, 687-693.
- Leinonen, I., Repo, T., Hanninen, H., and Burr, K.E.** (1995). A Second -order Dynamic Model for the Frost Hardiness of Trees. *Annals of Botany*. **76**, 89-95.
- Lennartsson, M.** (2003). Cold hardening and dehardening in *Salix*. In *Forest Genetics and Plant Physiology* (Umea: Swedish University of Agricultural Sciences), pp. 39.
- Levitt, H.J.** (1956). *The hardiness of plants.* (New York: Academic Press Inc.).

- Levitt, J.** (1978). An overview of freezing injury and survival, and its interrelationships to other stresses. In Plant cold hardiness and freezing stress, P.H. LI and A. SAKAI, eds (New York: Academic Press), pp. 3-15.
- Levitt, J.** (1980). Responses of plants to environmental stresses. Vol. 1. Chilling, freezing, and high temperature stress. (New York: Academic Press).
- Li, C., Juntilla, O., Ernstsén, A., Heino, P., and Palva, E.T.** (2003a). Photoperiodic control of growth, cold acclimation and dormancy development in silver birch (*Betula pendula*) ecotype. *Physiologia Plantarum* **117**, 206-212.
- Li, C., Viherä-Aarnio, A., Puhakainen, T., Juntilla, O., Heino, P., and Palva, E.T.** (2003b). Ecotype-dependent control of growth, dormancy and freezing tolerance under seasonal changes in *Betula pendula* Roth. *Trees* **17**, 127-132.
- Li, T.H., and Li, S.H.** (2005). Leaf responses of micropropagated apple plants to water stress: nonstructural carbohydrate composition and regulatory role of metabolic enzymes. *Tree Physiology* **25**, 495-504.
- Lichtenthaler, H.K., Ačb, A., Marek, M.V., Kalinac, J., and Urban, O.** (2007). Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry* **45** (8), 577-588.
- Lim, C.C., Krebs, S.L., and Arora, R.** (1999). A 25-kDa dehydrin associated with genotype and age-dependent leaf freezing-tolerance in *Rhododendron*: a genetic marker for cold hardiness? *Theoretical and Applied Genetics* **99**, 912-920.
- Linden, L.** (2002). Measuring cold hardiness in woody plants. In Department of Applied Biology (Helsinki: University of Helsinki), pp. 57+ appendices.
- Linden, L., Palonen, P., and Linden, M.** (2000). Relating Freeze-induced Electrolyte Leakage Measurements to Lethal Temperature in Red Raspberry. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. **125**, 429-435.
- Loach, K., and Little, C.H.A.** (1973). Production, storage, and use of photosynthate during shoot elongation in balsam fir (*Abies balsamea*). *Canadian Journal of Botany* **51**, 1161-1168.
- Lockwood, D.W., and Sparks, D.** (1978a). Translocation of ^{14}C from tops and roots of Pecan in the spring following assimilation of $^{14}\text{CO}_2$ during the previous growing season. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* **103**, 45-49.
- Lockwood, D.W., and Sparks, D.** (1978b). Translocation of ^{14}C in Stuart Pecan in the spring following assimilation of $^{14}\text{CO}_2$ during the previous growing season. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* **103**, 38-45.
- Locquin, M., and Langeron, M.** (1978). Manuel de microscopie. (Paris, New York, Barcelone, Milan)
- Loescher, W.H., McCamant, T., and Keller, J.D.** (1990). Carbohydrate Reserves, Translocation, and Storage in Woody Plant Roots. *HortScience* **25**, 274-281.

Lu, P., Joyce, D.G., and Sinclair, R.W. (2003). Geographic variation in cold hardiness among eastern white pine (*Pinus strobus* L.) provenances in Ontario. *Forest Ecology and Management* **178**, 329-340.

Lutze, J.L., Roden, J.S., Holly, C.J., Wolfe, J., Egerton, J.J.G., and Ball, M.C. (1998). Elevation atmospheric [CO₂] promotes frost damage in evergreen tree seedlings. *Plant, Cell and Environment* **21**, 631-635.

M

Maillard, P., Deleens, E., Daudet, F.A., Lacointe, A., and Frossard, J.S. (1994). Carbon economy in walnut seedlings during the acquisition of autotrophy studied by long-term labelling with ¹³CO₂. *Physiologia Plantarum* **91**, 359-368.

Maldonado, C.A., Zuniga, G.E., Corcuera, L.J., and Alberdi, M. (1997). Effect of water stress on frost resistance of oat leaves. *Environmental and Experimental Botany* **38**, 99-107.

Marvin, J.W. (1958). The physiology of maple sap flow. In *The Physiology of Forest Trees*, K.V. THIMANN, ed (New York, USA: Ronald Press), pp. 95-124.

Marvin, J.W., and Greene, M.T. (1951). Temperature-induced sap flow in excised stems of *Acer*. *Plant Physiology* **26**, 565-590.

Mathlouthi, M., and Genotelle, J. (1995). Rheological properties of sucrose solutions and suspensions. In *Sucrose: Properties and Applications*, M. MATHLOUTHI and P. REISER, eds (London: Blackie Academic & Professional), pp. 126-154.

Mauget, J.C. (1983). Etude de la levée de dormance et du débourrement des bourgeons de noyer (*Juglans regia* L., cv. « Franquette ») soumis à des températures supérieures à 15°C au cours de leur période de repos apparent. *Agronomie*, **3(8)**, 745-750

Mauget, J.C. (1984). Comportement comparé des bourgeons de l'année et des bourgeons latents chez le noyer (*Juglans regia* L., cv. Franquette). Conséquences sur la morphogenèse de l'arbre. *Agronomie*, 507-515.

Mayr, S., Cochard, H., Améglio, T., Kikuta, S.B. (2007). Embolism during freezing in the wood of *Picea abies*. *Plant Physiology* **143** (1), 60-67

McCamant, T. (1988). Utilization and transport of storage carbohydrates in sweet cherry (Pullman: Washington State University).

Miquel, M., James, D.J., Dooner, H., and Browse, J. (1993). Arabidopsis Requires Polyunsaturated Lipids for Low-Temperature Survival. *Plant Physiology* **90**, 6208-6212.

Moing, A., Lafargue, B., Lespinasse, J.M., and Gaudillère, J.P. (1994). Non-structural carbohydrates in flower buds and vegetative buds in prune trees. *Acta Horticulturae*, 287-294.

- Moing, A., Gaudillère, J.P.** (1992). Carbon and nitrogen partitioning in peach/plum grafts. *Tree Physiology* **10**, 81-92
- Moldau, H., and Karolin, A.** (1977). Effect of the reserve pool on the relationship between respiration and photosynthesis. *Photosynthetica* **11**, 38-47.
- Morard, P.** (1995). Les cultures végétales hors sol. (Agen).304 p
- Morin, X.** (2006). Biogéographie des espèces d'arbres européens et nord-américains : déterminisme et évolution sous l'effet du changement climatique. In Ecole Doctorale de Biologie des Systèmes Intégrés Agronomie-Environnement (Thèse, Montpellier : Université de Montpellier), pp. 468.
- Morin, X., and Chuine, I.** (2005). Sensitivity analysis of the tree distribution model PHENOFIT to climatic input characteristics: implications for climate impact assessment. *Global Change Biology* **11**, 1493-1503.
- Morin, X., Améglio, T., Ahas, R., Kurz-Besson, C., Lanta, V., Lebourgeois, F., Miglietta, F., and Chuine, I.** (2007). Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud burst among provenances of three European oak species. *Tree Physiology* **27**, 817-825.
- Mouliat, B.** (2000). Leaves as shell structures: Double curvature, auto-stresses, and minimal mechanical energy constraints on leaf rolling in grasses. *Journal of Plant Growth Regulation* **19**, 19-30
- Murray, M.B., Cape, J.N., and Fowler, D.** (1989). Quantification of frost damage in plant tissues by rates of electrolyte leakage. *New Phytologist*. **113**, 307-311.

N

- Nageleisen, L.-M.** (2005). Dépérissement du hêtre : présentation d'une méthode symptomatologique de suivi. *Revue Forestière Française* **57**, 255-262.
- Nelson, E.A., and Dickson, R.E.** (1981). Accumulation of food reserves in cottonwood stems during dormancy induction. *Canadian Journal of Forest Research*. **11**, 145-154.
- Nicolini, E.** (1997). Approche morphologique du développement du hêtre (*Fagus sylvatica* L.) (Thèse, Montpellier : Université de Montpellier).
- Nicolini, E., and Chanson, B.** (1999). La pousse courte, un indicateur du degré de maturation chez le hêtre (*Fagus sylvatica* L.). *Canadian Journal of Botany*. **77**, 1539-1550.
- Niki, T., and Sakai, A.** (1981). Ultrastructural changes related to frost hardiness in the cortical parenchyma cells from mulberry twigs. *Plant and Cell Physiology* **22**, 171-183.

Norby, R.J., Hartz-Rubin, J.S., and Verbrugge, M.J. (2003). Phenological responses in maple to experimental atmospheric warming and CO₂ enrichment. *Global Change Biology* **9**, 1792-1801.

Nordin, K., Heino, P., and Palva, E.T. (1991). Separate signal pathways regulate the expression of a low-temperature-induced gene in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Molecular Biology* **16**, 1061-1071.

Nordin, K., Vahala, T., and Palva, E.T. (1993). Differential expression of two related, low-temperature-induced genes in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Molecular Biology* **21**, 641-653.

O

O'Malley, P.E.R., and Milburn, J.A. (1983). Freeze-induced fluctuations in xylem sap pressure in *Acer pseudoplatanus*. *Canadian Journal of Botany* **61**, 3100-3106.

Oberbauer, S.F. (1985). Plant water relations of selected species in wet and dry tropical lowland forests in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* **33**, 137-142.

Obrist, D., Arnone, J.A., and Körner, Ch. (2001). In situ Effects of Elevated Atmospheric CO₂ on Leaf Freezing Resistance and Carbohydrates in a Native Temperate Grassland. *Annals of Botany* **87**, 839-844

Odlum, K.D., Blake, T.J., Kim, Y.T., and Glerum, C. (1993). Influence of photoperiod and temperature on frost hardiness and free amino acid concentrations in black spruce seedlings. *Tree Physiology* **13**, 275-282.

Ögren, E. (1997). Relationship between temperature, respiratory loss of sugar and premature dehardening in dormant Scots pine seedlings. *Tree Physiology* **17**, 47-51.

Ögren, E. (1999). Fall frost resistance in willows used for biomass production. II. Predictive relationships with sugar concentration and dry matter content. *Tree Physiology* **19**, 755-760.

Ögren, E. (2000). Maintenance respiration correlates with sugar but not nitrogen contraction in dormant plants. *Physiologia Plantarum* **108**, 295-299.

Ozenda, P. (1982). Les végétaux dans la biosphère. (Paris: Doin).

P

Pakonen, T., Saari, E., Laine, K., Havas, P., and Lahdesmaki, P. (1991). How do seasonal changes in carbohydrate concentrations in tissues of the bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) reflect carbon resource allocation patterns? *Acta Oecologica* **12**, 249-259.

Palonen, P., Buszard, D., and Donnelly, D. (2000). Changes in carbohydrates and freezing tolerance during cold acclimation of red raspberry cultivars grown in vitro and in vivo. *Physiologia Plantarum* **110**, 393-401.

- Palta, J.P., Levitt, J., and Staldermann, E.J.** (1978). Plant viability assay. *Cryobiology* **15**, 249-255.
- Parmesan, C., and Yohe, G.** (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* **421**, 37-42
- Parsons, L.R.** (1978). Water Relations, Stomatal Behavior, Root Conductivity of Red Osier Dogwood during Acclimzition to Frezzing Temperatures. *Plant Physiology* **62**, 64-70.
- Patonnier, M.P., Peltier, J.P., and Marigo, G.** (1999). Drought-induced increase in xylem malate and mannitol concentrations and closure of Fraxinus excelsior L stomata. *Journal of Experimental Botany* **50**, 1223-1229.
- Paul, M.J., and Driscoll, S.P.** (1997). Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signalling nitrogen deficiency through source:sink imbalance. *Plant, Cell & Environment* **20**, 110-116.
- Pearce, R.S.** (1980). Relative hardiness to freezing of Laminae, roots and tillers of Tall fescue. *New Phytologist*. **84**, 449-463.
- Pearce, R.S.** (2001). Plant Freezing and damage. *Annals of Botany*. **87**, 417-424.
- Pellicier, V.** (1994). Influence de la température sur la mobilisation des réserves glucidiques chez le noyer : relation avec la physiologie de l'eau. (Mémoire de DEA, Clermont-Ferrand: Université Blaise Pascal), pp. 30.
- Petit, A.-M.** (1985). Quelques données actuelles sur le noyer et son utilisation (Thèse, Clermont-Ferrand: Université de Clermont I - Faculté de Pharmacie), pp. 147.
- Petrov, A.A., and Manolov, P.** (1973). Autumn accumulation of reserve ¹⁴C-labelled assimilates and their spring mobilization in young peach trees. *Comptes rendus de l'Académie Agricole Georgi Dimitrov* **6 (2)**, 91-102.
- Pfanz, H., Aschan, G., Langenfeld-Heyser, R., Wittmann, C., and Loose, M.** (2002). Ecology and ecophysiology of tree stems: corticular and wood photosynthesis. *Naturwissenschaften* **89**, 147-162.
- Pither, J.** (2003). Climate tolerance and interspecific variation in geographic range size. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* **270**, 475-481.
- Poirier, M., and Améglio, T.** (2006). Impact of summer conditions of growth (drought defoliation) on freezing tolerance of trees. *Cryobiology* **53**, 425.
- Poirier, M., Bodet, C., Ploquin, S., Saint-Joanis, B., Lacoïnte, A., and Améglio, T.** (2006). Walnut cultivar performance of cold resistance in south-central France. *Acta Horticulturae* No.705, 281-285.
- Pomeroy, M.K., and Siminovitch, D.** (1971). Seasonal cytological changes in secondary phloem parenchyma cells in Robinia pseudoacacia in realtion to cold hardiness. *Canadian Journal of Botany* **49**, 787-795.

Portsmuth, A., and Niinemets, U. (2007). Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Functional Ecology* **21**, 61-77.

Priestley, C.A. (1960). Seasonal changes in the carbohydrate resources of some six-year-old apple trees. *Report. East Malling Research Station* **44**, 70-77.

Priestley, C.A. (1962). Carbohydrate resources within the perennial plant. Their utilization and conservation. (Farnham Royal: Technical communication, Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops). 116 p

Priestley, C.A. (1963). The carbohydrate resources of young apple-trees under four levels of illumination. *Annals of Botany*. **27**, 435-446.

Priestley, C.A. (1964). The importance of autumn foliage to carbohydrate status and root growth of apple trees. *Report. East Malling Research Station* **48**, 104-106.

Priestley, C.A. (1970). Carbohydrate storage and utilization. In *Physiology of tree crops*, C.C.V.E. LUCKWILL L.C., ed (London: Academic Press), pp. 113-127.

Priestley, C.A. (1977). The annual turnover of resources in young olive trees. *Journal of the Horticultural Science*. **52**, 105-112.

Priestley, C.A. (1981). Perennation in woody fruit plants and its relationship to carbohydrate turnover. *Annals of Applied Biology* **98**, 548-552.

Q

Qamaruddin, M., Dormling, I., Ekberg, I., Eriksson, G., and Tillberg, E. (1993). Absciscic acid content at defined levels of bud dormancy and frost tolerance in two contrasting populations of *Picea abies* grown on a phytotron. *Physiologia Plantarum* **87**, 203-210.

Quénol, H. (2002). Climatologie appliquée aux échelles fines : l'exemple de l'impact d'un remblai ferroviaire et des haies brise-vent sur le gel printanier et sur l'écoulement du mistral dans la basse vallée de la Durance (Thèse, Lille: Université de LILLE I), pp. 284 + annexes.

Quinlan, J.D. (1969). Mobilization of ¹⁴C in the spring following autumn assimilation of ¹⁴CO₂ by an apple rootstock. *Journal of Horticultural Science* **44**, 107-110.

R

Raimbault, P. (1998). L'hypotonie, mécanisme de sélection des axes, du méristème à l'architecture de l'arbre entier, chez *Acer pseudoplatanus* (Thèse, Angers : Université d'Angers), pp. 248.

Rebetez, M., Mayer, H., Dupont, O., Schindler, D., Gartner, K., Kropp, J.P., and Menzel, A. (2006). Heat and drought 2003 in Europe: a climate synthesis. *Annals of Forest Sciences* **63**, 569-577.

Repo, T., Makela, A., and Hanninen, H. (1990). Modelling frost resistance of trees. *Silva Carelica* **15**, 61-74.

Repo, T., Hanninen, H., and Kellomaki, S. (1996). The effects of long-term elevation of air temperature and CO₂ on the frost hardness of scots pine. *Plant, Cell and Environment* **19**, 209-216.

Riedacker, A. (1976). Rythmes de croissance et de régénération des racines des végétaux ligneux. *Annales des Sciences Forestières* **33**, 109-138.

Rohde, A., and Bhalerao, R.P. (2007). Plant dormancy in the perennial context. *TRENDS in Plant Science* **12**, 217-223.

Roper, T.R., Keller, J.D., Loescher, W.H., and Rom, C.R. (1988). Photosynthesis and carbohydrate partitioning in sweet cherry : fruiting effects. *Physiologia Plantarum* **72**, 42-47.

S

Sabatier, S. (1999). Variabilité morphologique et architecturale de deux espèces de noyers, *Juglans regia* L., *Juglans nigra* L. et de deux noyers hybrides interspécifiques (Thèse, Montpellier : Université Montpellier), pp. 141 + annexes.

Sagisaka, S. (1974). Effect of Low Temperature on Amino Acid Metabolism in 'Wintering Poplar. *Plant Physiology* **53**, 319-322.

Sakai, A. (1966). Studies of Frost Hardiness in Woody Plants. II. Effect of Temperature on Hardening. *Plant Physiology* **41**, 353-359.

Sakai, A., and Weisser, C.J. (1973). Freezing resistance of trees on North America with reference to tree regions. *Ecology* **54**, 118-126.

Sakai, A., and Larcher, W. (1987). Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress. (Berlin: Springer Verlag).

Sakr, S., Alves, G., Morillon, R., Maurel, K., Decourteix, M., Guilliot, A., Fleurat-Lessard, P., Julien, J.L., and Chrispeels, M.J. (2003). Plasma Membrane Aquaporins Are Involved in Winter Embolism Recovery in Walnut Tree. *Plant Physiology* **133**, 630-641.

Samygin, G.A. (1994). The Processes Responsible for Plant Cell Damage by Extracellular Ice. *Russian Journal of Plant Physiology* **41**, 539-549.

Sarvas, R. (1974). Investigations on the annual cycle of development of forest trees. II. Autumn dormancy and winter dormancy. *Commununicationes Instituti Forestalis Fenniae* **84**, 1-110.

- Sauter, J.J.** (1966). Untersuchungen zur Physiologie der Pappelholzstrahlen. II. Jahresperiodischer Änderungen des Phosphataseaktivität im Holzstrahlparenchym und ihre mögliche Bedeutung für den Kohlenhydrastoff Wechsel und den aktiven Assimilattransport. *Zeitschrift für Pflanzen Physiologie* **55**, 349-362.
- Sauter, J.J.** (1967). Changes in starch content of different parenchyma of trees as induced by temperature. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. **56**, 340-352.
- Sauter, J.J.** (1972). Respiratory and phosphatase activities in contact cells of wood rays and their possible role in sugar secretion. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. **67**, 135-145.
- Sauter, J.J.** (1981). Sucrose uptake in the xylem of Populus. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **103**, 165-168.
- Sauter, J.J.** (1982a). Efflux and reabsorption of sugars in the xylem. I. Seasonal changes in sucrose efflux in Salix. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. **106**, 325-336.
- Sauter, J.J.** (1982b). Transport in Markstrahlen. *Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft*. **95**, 593-618.
- Sauter, J.J.** (1983). Efflux and reabsorption of sugars in the xylem. II. Seasonal changes in sucrose uptake in Salix. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. **111**, 429-440.
- Sauter, J.J.** (1988a). Temperature induced changes in starch and sugars in the stem of Populus x canadensis "robusta". *Journal of Plant Physiology* **132**, 608-612.
- Sauter, J.J.** (1988b). Seasonal changes in the efflux of sugars from parenchyma cells into the apoplast in poplar stems (Populus x canadensis "robusta"). *Trees* **2**, 242-249.
- Sauter, J.J., and Ambrosius, T.** (1986). Changes in Partitioning of Carbohydrates in the Wood during Bud Break in *Betula pendula* Roth. *Journal of Plant Physiology*. **124**, 31-43.
- Sauter, J.J., and Kloth, S.** (1987). Changes in carbohydrates and ultrastructure in xylem ray cells of Populus in response to chilling. *Protoplasma* **137**, 45-55.
- Sauter, J.J., and Van Cleve, B.** (1994). Storage, mobilization and interrelations of starch, sugars, protein and fat in the ray storage tissue of poplar trees. *Trees*, 297-304.
- Sauter, J.J., and Wellenkamp, S.** (1998). Seasonal changes in content of starch, protein and sugars in the twig wood of Salix caprea L. *Holzforschung* **52**, 255-262.
- Sauter, J.J., Iten, W., and Zimmermann, M.H.** (1973). Studies on the release of sugar into the vessels of sugar maple (Acer saccharum). *Canadian Journal of Botany* **51**, 1-8.
- Sauter, J.J., Wisniewski, M., and Witt, W.** (1996). Interrelationship between ultrastructure, sugar levels, and frost hardness of ray parenchyma cells during frost acclimation and deacclimation in Poplar wood. *Journal of Plant Physiology*. **149**, 451-461.

- Scarath, G.W., and Levitt, J.** (1937). The frost-hardening mechanism of plant cells. *Plant Physiology* **12**, 51-78.
- Schimpf, C., and Stosser, R.** (1984). Histochemische Untersuchungen über die jahreszeitliche Einlagerung und Verteilung von Stärke in Langtrieben beim Apfel. *Mitteilungen Klosterneuburg* **34**, 209-220.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E.A., and Bradstreet, E.D.** (1964). Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the national Academy of Sciences of the USA* **52**, 119-125.
- Schrader, S., and Sauter, J.J.** (2002). Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus × canadensis* Moench «robusta») and their possible role in carbohydrate metabolism. *Journal of Plant Physiology* **159**, 833-843.
- Seguin, B.** (1990). La température de surface d'un couvert végétal et son état hydrique. Possibilité d'application à la surveillance des forêt par satellite. *Revue forestière française XLII n° spécial « espaces forestiers et incendies »*, 106-111.
- Seibel, J.R., and Fuchigami, L.H.** (1978). The relationship between vegetative maturity and the onset of winter dormancy in red-osier dogwood. *Journal of the American Society of Horticultural Science* **103**, 737-739.
- Shirazi, A.M., and Fuchigami, I.H.** (1995). Effect of "near lethal" stress on bud dormancy and stem cold hardiness in red-osier dogwood. *Tree Physiology* **15**, 275-279.
- Silpi, U., Lacointe, A., Kasempsap, P., Thanysawanyangkura, S., Chantuma, P., Gohet, E., Musigamart, N., Clément, A., Améglio, T., and Thaler, P.** (2007). Carbohydrate reserves as a competing sink: evidence from tapping rubber trees. *Tree Physiology* **27**, 881-889.
- Siminovitch, D., Wilson, C.M., and Briggs, D.R.** (1953). Studies on the chemistry of the living bark of the black locust in the relation to its frost hardiness. V. Seasonal transformations and variations in the carbohydrates: starch-sucrose interconversions. *Plant Physiology* **28**, 383-400.
- Siminovitch, D., Singh, J., and De La Roche, I.A.** (1975). Studies on membranes in plants cells resistant to extreme freezing. Augmentation of phospholipids and membrane substances without changes in unsaturation of fatty acids during hardening of black locust bark. *Cryobiology* **12**, 144-153.
- Sivaci, A.** (2006). Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malus sylvestris* Miller) stem cuttings. *Scientia Horticulturae* **109**, 234-237.
- Sperry, J.S., and Sullivan, J.E.M.** (1992). Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous and conifer species. *Plant Physiology* **100**, 605-613.
- Sperry, J.S., Holbrook, N.M., Zimmermann, M.H., and Tyree, M.T.** (1987). Spring filling of xylem vessels in wild grapevine. *Plant Physiology* **83**, 414-417.

- Sprugel, D.G., Hinckley, T.M. and Schaap, W.** (1991). The theory and practice of branch autonomy. *Annual Review of Ecology and Systematics* **22**, 309-334
- Stassen, P.J.C., Strydom, D.K., and Stindt, H.W.** (1981). Seasonal changes in carbohydrate fractions of young kakamas peach trees. *Agroplanta* **13**, 47-53.
- Stepien, V., and Martin, F.** (1992). Purification, characterization and localization of the bark storage proteins of poplar. *Plant Physiology and Biochemistry*. **30**, 399-407.
- Stepien, V., Sauter, J.J., and Martin, F.** (1994). Vegetative storage protein in woody plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. **32**, 185-192.
- Strati, S., Patino, S., Slidders, C., Cundall, E.P., and Mencuccini, M.** (2003). Development and recovery from winter embolism in silver birch: seasonal patterns and relationships with the phenological cycle in oceanic Scotland. *Tree Physiology* **23**, 663-673.
- Straw, N.A., Fielding, N.J., Green, G., and Price, J.** (2005). Defoliation and growth loss in young Sitka spruce following repeated attack by the green spruce aphid, *Elatobium abietinum* (Walker). *Forest Ecology and Management* **213**, 349-368.
- Strimbeck, G.R., and Dehayes, D.H.** (2000). Rapid freezing injury in red spruce: seasonal changes in sensitivity and effects of temperature range. *Tree Physiology* **20**, 187-194.
- Suh, Y., Heo, K., and Park, C.** (2000). Phylogenetic relationships of maples (*Acer* L.; *Aceraceae*) implied by nuclear ribosomal ITS sequences. *Journal of Plant Research* **113**, 193-202.
- Sung, D.Y., Kaplan, F., Lee, K.J., and Guy, C.L.** (2003). Acquired tolerance to temperature extremes. *TRENDS in Plant Science* **8**, 179-187.
- Sutinen, M.L., Palta, J.P., and Reich, P.B.** (1992). Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa* : evaluation of the electrolyte leakage method. *Tree Physiology* **11**, 241-254.
- Sutton, F., Ding, X., Kenefick, D.G.** (1992). Group 3 LEA gene HVA1 regulation by cold acclimation and deacclimation in two barley cultivars with varying freeze resistance. *Plant Physiology* **99**, 338-340

T

- Taji, T., Ohsumi, C., Iuchi, S., Seki, M., Kasuga, M., Kobayashi, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K.** (2002). Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* **29**, 417-426.
- Takhtajan, A.** (1997). Diversity and classification of flowering plants. In Diversity and classification of flowering plants, C.U. Press, ed (New York USA), pp. 643.

- Tamassy, I., and Zayan, M.** (1982). Seasonal changes in total sugars, reducing and non-reducing sugars and starch contents in relation to cold hardiness of some apricot varieties from different groups. *Acta Horticulturae* **121**, 125-139.
- Taulavuori, K.M.J., Taulavuori, E.B., Skre, O., Nilsen, J., Igeland, B., and Laine, K.M.** (2004). Dehardening of mountain birch (*Betula pubescens* ssp. *czerepanovii*) ecotypes at elevated winter temperatures. *New Phytologist* **162**, 427-436.
- Teissier Du Cros, E., Le Tacon, F., Nepveu, G., Parde, J., Perrin, R., and Timbal, J.** (1981). Le hêtre. (Paris: INRA). **Thomas, F.M., and Ahlers, U.** (1999). Effects of excess nitrogen on frost hardiness and freezing injury of above-ground tissue in young oaks (*Quercus petraea* and *Q. robur*). *New Phytologist* **144**, 73-83.
- Thomas, F.M., Meyer, G., and Popp, M.** (2004). Effects of defoliation on the frost hardiness and the concentrations of soluble sugars and cyclitols in the bark tissue of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Annals of Forest Sciences*. **61**, 455-463.
- Thomashow, M.F.** (1999). Plant Cold Acclimation : Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**, 571-599.
- Tian, W.M., Wu, J.L., Hao, B.Z., and Hu, Z.H.** (2003). Vegetative storage proteins in the tropical tree *Swietenia macrophylla*: seasonal fluctuation in relation to a fundamental role in the regulation of tree growth. *Canadian Journal of Botany* **81**, 492-500.
- Tian, W.M., Peng, S.Q., Hao, B.Z., Wu, J.L., Hu, Z.H., and Cui, K.M.** (2005). Poplar trees (*Populus canadensis* Moench) initiate vegetative storage protein accumulation during new shoot development in spring. *Journal of Integrative Plant Biology* **47**, 717-725.
- Timmis, R., Flewelling, J., and Talbert, C.** (1994). Frost injury prediction model for Douglas-fir seedlings in the Pacific Northwest. *Tree Physiology* **14**, 855-869.
- Tinus, R.W., Burr, K.E., Atzmon, N., and Rioz, J.** (2000). Relationship between carbohydrate concentration and root growth potential in coniferous seedlings from three climates during cold hardening and dehardening. *Tree Physiology* **20**, 1097-1104.
- Titov, A.F., and Sherudilo, E.G.** (1990). The degree of suppression in processes of heat and cold adaptation of plants by inhibitors of RNA and protein synthesis at different hardening temperatures. *Fiziologiya i Biokhimiya Kul'turnykh Rastenii* **22**, 384-388.
- Travert, S., Valerio, L., Fouraste, I., Boudet, A.M., and Teulières, C.** (1997). Enrichment in Specific Soluble Sugars of Two Eucalyptus Cell-Suspension Cultures by Various Treatments Enhances Their Frost Tolerance via a Noncolligative Mechanism. *Plant Physiology*. **114**, 1433-1442.
- Tromp, J.** (1983). Nutrient reserves in roots of fruit trees, in particular carbohydrates and nitrogen. *Plant Soil* **71**, 401-413.

Tsvetanov, S., Atanasov, A., and Nakamura, C. (2000). Gold responsive gene/protein families and cold/freezing tolerance in cereals. *Biotechnology. & Biotechnological Equipment*. **14**, 3-11.

Tyree, M.T. (1983). Maple sap uptake, exudation, and pressure changes correlated with freezing exotherms and thawing endotherms. *Plant Physiology* **73**, 277-285.

Tyree, M.T., and Cochard, H. (1996). Summer and winter embolism in oak. Impact on water relations. *Annales des Sciences Forestières* **53**, 173-180.

Tyree, M.T., Cochard, H., Cruiziat, P., Sinclair, B., Améglio, T. (1993). Drought induced leaf shedding in walnut: Evidence for vulnerability segmentation. *Plant, Cell and Environment*, **16** (7), 879-882.

U

Uemura, M., and Steponkus, P.L. (2003). Modification of the intracellular sugar content alters the incidence of freeze-induced membrane lesions of protoplasts isolated from *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant, Cell and Environment* **26**, 1083-1096.

Ulmer, W. (1937). Über den Jahresgang der Frosthärte einiger immergrüner Arten der alpinen Stufe, sowie der Zirbe und Fichte. Unter Berücksichtigung von osmotischen Wert, Zuckerspiegel und Wassergehalt. *Jahrbuch für wissenschaftliche Botanik*. **84**, 553-592.

V

Valentin, V. (1997). Etude des échanges de sucres entre cellules associées aux vaisseaux et vaisseaux du bois, en relation avec la température, chez le noyer. (Mémoire de DEA, Clermont-Ferrand : Université Blaise Pascal), pp. 25

Valentin, V., Améglio, T., Lacoïnte, A., Julien, J.L., and Pétel, G. (2001). Sugars exchanges between vessels associated cells and xylem vessels, in relation with the temperature, in walnut. *Acta Horticulturae*, 309-315.

Valladares, F., Chico, J.M., Aranda, I., Balaguer, L., Dizengremel, P., Manrique, E., and Dreyer, E. (2002). The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees* **16**, 395-403.

Van Cleve, B., Clausen, S., and Sauter, J.J. (1988). Immunochemical localization of a storage protein in poplar wood. *Journal of Plant Physiology* **133**, 371-374.

Vejpustkova, M., and Holusa, J. (2006). Impact of defoliation caused by the sawfly *Cephalcia lariciphila* (Hymenoptera: Pamphilidae) on radial growth of larch (*Larix decidua* Mill.). *European Journal of Forest Research* **125**, 391-396.

Von Fircks, H.A. (1992). Frost hardiness of dormant *Salix* shoots. *Scandinavian Journal of Forest Research* **7**, 317-323.

W

- Walters, M.B., and Reich, P.B.** (1999). Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist* **143**, 143-154.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O., and Bairlein, F.** (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature* **416**, 389-395.
- Wardlaw, I.F.** (1990). The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist* **116**, 341-381.
- Wargo, P.M.** (1971). Seasonal changes in carbohydrate levels in roots of sugar maple. *USDA Forest Service, Research Paper*, 8 pp.
- Wargo, P.M.** (1979). Starch storage and radial growth in woody roots of sugar maple. *Canadian Journal of Forest Research*, 49-56.
- Wargo, P.M.** (1981a). Defoliation and tree growth. In *The Gypsy Moth: Research Toward Integrated Pest Management* (Technical Bulletin, U.S.D.A.), pp. 225-240.
- Wargo, P.M.** (1981b). Defoliation, dieback and mortality. In *The Gypsy Moth: Research Toward Integrated Pest Management* (Technical Bulletin, U.S.D.A.), pp. 240-248.
- Webb, D.P.** (1976). Root growth in *Acer saccharum* marsh. seedlings: effects of light intensity and photoperiod on root elongation rates. *Botanical Gazette* **137**, 211-217.
- Weiser, C.J.** (1970). Cold resistance and injury in woody plants. *Science* **169**, 1269-1278.
- Weissen, P.** (1996). Dix ans plus tard : l'état de la question sur le dépérissement en forêt wallonne. *Silva Belgica* **103**, 9-19.
- Welling, A., and Palva, E.T.** (2006). Molecular control of cold acclimation in trees. *Physiologia Plantarum* **127**, 167-181.
- Welling, A., Kaikuranta, P., and Rinne, P.** (1997). Photoperiodic induction of dormancy and freezing tolerance in *Betula pubescens*. Involvement of ABA and dehydrins. *Physiologia Plantarum* **100**, 119-125.
- Wetzel, S., Demmers, C., and Greenwood, J.S.** (1989). Seasonally fluctuating bark proteins are a potential form of nitrogen storage in three temperate hardwoods. *Planta* **178**, 275-281.
- Whitlow, T.H., Bassuk, N.L., Ranney, T.G., and Reichert, D.L.** (1992). An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. *Plant Physiology* **98**, 198-205.

Wiemken, V., Kossatz, L., and Ineichen, K. (1996). Frost hardiness of Norway spruce grown under elevated atmospheric CO₂ and increased nitrogen fertilizing. *Journal of Plant Physiology* **149**, 433-438.

Willmott, C.J. (1982). Some Comments on the Evaluation of Model Performance. *Bulletin American Meteorological Society* **63**, 1309-1313.

Winkler, A.J., and Williams, W.O. (1945). Starch and sugars of *Vitis vinifera*. *Plant Physiology* **20**, 412-432.

Wisniewski, M., and Ashworth, E.N. (1986). A comparison of seasonal ultrastructural changes in stem tissues of peach (*Prunus persica*) that exhibit contrasting mechanisms of cold hardiness. *Botanica Gazette* **147**, 407-417.

Wittmann, C., Aschan, G., and Pfanz, H. (2001). Leaf and twig photosynthesis of young beech (*Fagus sylvatica*) and aspen (*Populus tremula*) trees grown under different light regime. *Basic and Applied Ecology* **2**, 145-154.

Wu, J., and Browse, J. (1995). Elevated Levels of High-Melting-Point Phosphatidylglycerols Do Not Induce Chilling Sensitivity in an Arabidopsis Mutant. *The Plant Cell* **7**, 17-27.

X

Xin, Z., and Browse, J. (1998). *eskimo1* mutants of *Arabidopsis* are constitutively freezing-tolerant. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America* **95**, 7799-7804.

Xin, Z., and Browse, J. (2000). Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant, Cell and Environment* **23**, 893-902.

Y

Yamada, T., Kuroda, K., Jitsuyama, Y., Takezawa, D., Arakawa, K., and Fujikawa, S. (2002). Roles of the plasma membrane and the cell wall in the responses of plant cells to freezing. *Planta* **215**, 770-778.

Yamazaki, J.Y., Ohashi, A., Hashimoto, Y., Negishi, E., Kumagai, S., Kubo, T., Oikawa, T., Maruta, E., and Kamimura, Y. (2003). Effects of high light and low temperature during harsh winter on needle photodamage of *Abies mariesii* growing at the forest limit on Mt. Norikura in Central Japan. *Plant Science* **165**, 257-264.

Yoshida, S. (1984). Chemical and biophysical changes in the plasma membrane during cold acclimation of mulberry bark cells (*Morus bombycis* Koidz. cv. Goroji). *Plant Physiology* **76**, 257-265.

Yoshida, S. (1986). Reverse changes in plasma membrane properties upon deacclimation of mulberry trees (*Morus bombycis* Koidz.). *Plant and Cell Physiology* **27**, 83-89.

Yoshino, M. (1975). Climate in a small area : an introduction to local meteorology. (University of Tokyo Press).549 p

Z

Zhang, M.I.N., and Willison, J.H.M. (1987). An improved conductivity method for measurement of frost hardiness. *Canadian Journal of Botany* **65**, 710-715.

Zhu, B.L., and Coleman, G.D. (2001a). Phytochrome-mediated photoperiod perception, shoot growth, glutamine, calcium, and protein phosphorylation influence the activity of the poplar bark storage protein gene promoter (bspA). *Plant Physiology*. **126**, 342-351.

Zhu, B.L., and Coleman, G.D. (2001b). The poplar bark storage protein gene (bspA) promoter is responsive to photoperiod and nitrogen in transgenic poplar and is active in floral tissues, immature seeds and germinating seeds of transgenic tobacco. *Plant Molecular Biology* **46**, 383-394.

Ziegler, H. (1964). Storage, mobilization and distribution of reserve material in trees. In The formation of wood in forest trees, Z.M.H. (Ed.), ed (New York: Academic Press), pp. 303-320.

Zimmermann, M.H., and Brown, C.L. (1971). Trees. Structure and function. (New York: Springer Verlag).

Zweifel, R., and Hasler, R. (2000). Frost-induced reversible shrinkage of bark of mature subalpine conifers. *Agricultural and Forest Meteorology* **102**, 213-222.

RESUME

L'impact des conditions estivales de croissance (défoliation, stress hydrique, carence azotée) sur la résistance au gel des différents organes de l'arbre, en liaison avec leur statut carboné, a été étudié chez le noyer (*Juglans regia*). La comparaison de plusieurs méthodes estimant la résistance au gel montre que Gélista™, une nouvelle technique pour estimer l'endurcissement au gel à partir des variations de diamètre des rameaux, indique seulement une gamme de sensibilité au gel. Le test de fuite des électrolytes montre une plus grande sensibilité dans la détermination de la température de résistance au gel. Ensuite, l'étude des corrélations entre le LT₅₀ et les différentes variables (sucres solubles, humidité pondérale et moyenne des températures minimales journalières sur les 15 jours qui précèdent le prélèvement) a permis de construire un modèle simple pouvant prédire le niveau de résistance au gel des rameaux d'un an pour deux variétés de noyers adultes (Franquette et NG38). L'étude du développement aérien végétatif montre que le potentiel d'adaptation (plasticité morphologique) des arbres aux contraintes culturales est plus faible en fin de saison estivale de croissance. Les traitements ont eu un impact sur la structure, la biomasse totale et structurale, ainsi que sur les réserves glucidiques. En général, les traitements ont provoqué une diminution plus ou moins forte de la mise en réserve glucidique dans les différents organes. Par ailleurs, l'analyse des impacts des conditions estivales de croissance sur la résistance au gel a mis en évidence une corrélation forte et négative entre le LT₅₀ et la teneur en GFS dans les organes aériens. Pour les organes souterrains, elle existe également mais elle est plus faible. Enfin, pour les rameaux de l'année, l'ensemble des résultats obtenu sur de jeunes noyers en conteneur a été vérifié sur des noyers adultes.

Mots clés : *Juglans regia* L., *Juglans nigra* × *Juglans regia*, résistance au gel, Gélista™, test de fuite des électrolytes, modélisation, contraintes culturales, développement estival, réserves carbonées.

ABSTRACT

The impact of the contrasted summer conditions of growth (defoliation, drought, nitrogen deficiency, ...) on the freezing tolerance of different tissues and organs, in relation to their carbohydrate status, is studied in walnut trees (*Juglans regia*). Comparison of several methods for estimate the freezing tolerance (electrolyte leakage test, Gélista™ method, optical microscopy, whole plant freeze test) showed that Gélista™ method, a new tool for testing frost hardiness by stem diameter variations, simply indicated a range of freezing sensibility and electrolyte leakage test showed the best sensibility for estimate the freezing tolerance. Correlation analysis between LT₅₀ and different variables (carbohydrates, water content and mean minimal daily temperatures of 15 days before sampling) was used to establish a simple model to forecast freezing tolerance in annual twigs of two walnut tree cultivars (Franquette and NG38). Walnut tree is a plant that can adjust its aerial development in response to environmental constraints: this potential of adaptation to cultural constraints (morphological plasticity) is lower at the end of summer growth period. The different treatments have an impact on carbon reserves, cellular structure, total and structural biomass. In general, treatments induced a decrease in carbon reserves in the different organs of tree. This decrease is more or less strong according to the conditioning. Moreover, analysis of the impact of summer growing conditions on walnut freezing tolerance has revealed a strong and negative correlation between LT₅₀ and carbohydrates content in the aboveground organs. For the belowground organs, this correlation exists too, but it is weaker. Finally, for annual twigs, the results obtained on young potted trees paralleled those obtained on adult trees.

Keywords: *Juglans regia* L., *Juglans nigra* × *Juglans regia*, cold hardiness, Gélista™, electrolyte leakage test, modeling, cultural stress, summer development, carbon reserves.